

SÉRIE A N° 317

N° D'ORDRE

975

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

M. L. LUTZ

PRÉPARATEUR A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA NUTRITION DES VÉGÉTAUX A L'AIDE DE SUBSTANCES AZOTÉES DE NATURE ORGANIQUE (AMINES, SELS D'AMMONIUMS COMPOSÉS ET ALCALOÏDES).

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 28 Janvier 1899 devant la Commission d'examen.

MM. GASTON BONNIER	<i>Président.</i>
DASTRE	} <i>Examineurs.</i>
MUNIER-CHALMAS	

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

420, boulevard Saint-Germain, en face de l'École de Médecine

1898

1899

SÉRIE A N° 317

N° D'ORDRE
975

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

M. L. LUTZ

PRÉPARATEUR A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA NUTRITION DES VÉGÉTAUX A L'AIDE DE SUBSTANCES AZOTÉES DE NATURE ORGANIQUE (AMINES, SELS D'AMMONIUMS COMPOSÉS ET ALCALOÏDES).

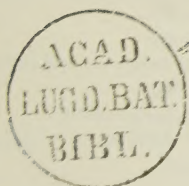
2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 28 Janvier 1899 devant la Commission d'examen.

GASTON BONNIER..... *Président.*

DASTRE.....

MUNIER-CHALMAS..... } *Examinateurs.*



PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

20, Boulevard Saint-Germain, en face de l'École de Médecine

1899

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

MM.

Doyen	G. DARBOUX, Professeur. Géométrie supérieure.
Professeur honoraire....	HERMITE.
	DE LACAZE-DUTHIERS. Zoologie, Anatomie Physiologie comparée.
	TROOST Chimie.
	FRIEDEL..... Chimie organique.
	LIPPMANN..... Physique.
	HAUTEFEUILLE..... Minéralogie.
	BOUTY..... Physique.
	APPELL..... Mécanique rationnelle.
	DUCLAUX Chimie biologique.
	BOUSSINESQ Physique mathématique et Calcul des probabilités.
	PICARD Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
Professeurs	POINCARÉ..... Astronomie mathématique et Mécanique céleste.
	Y. DELAGE Zoologie, Anatomie, Physiologie comparées.
	Gaston BONNIER..... Botanique.
	DASTRE..... Physiologie.
	DITTE..... Chimie.
	MUNIER-CHALMAS..... Géologie.
	GIARD..... Zoologie. Évolution des êtres organisés.
	WOLF Astronomie.
	KOENIGS. Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN..... Géographie physique.
	GOUSAT..... Calcul différentiel et calcul intégral.
Professeurs adjoints...	{ CHATIN..... Zoologie, Anatomie, Physiologie comparées.
	{ PELLAT..... Physique.
	{ PUISEUX..... Mécanique et Astronomie.
Secrétaire.....	FOUSSEREAU.

A

M. GUIGNARD

MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Hommage de respectueuse reconnaissance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

RECHERCHES
SUR
LA NUTRITION DES VÉGÉTAUX

A L'AIDE DE SUBSTANCES AZOTÉES DE NATURE ORGANIQUE

Par M. L. LUTZ.

INTRODUCTION

Parmi les questions de physiologie végétale qui ont occupé au plus haut point l'attention des savants, celle de la nutrition azotée des différentes plantes, supérieures ou inférieures, tient une place des plus importantes. Nombre d'auteurs ont dirigé leurs recherches vers la question si complexe de l'assimilation de l'azote, mais la plupart des travaux ne visent que les deux ordres de faits suivants :

1° Fixation de l'azote provenant des nitrates ou des sels ammoniacaux ;

2° Fixation directe de l'azote atmosphérique, soit par les plantes, soit par les micro-organismes, soit par le sol.

Je ne m'étendrai pas longuement sur ces travaux, qui s'écartent notablement du cadre que je me suis tracé ; toutefois, plusieurs d'entre eux méritent une mention spéciale.

Boussingault (1) appelle le premier l'attention sur la fixation de l'azote atmosphérique en constatant que, placés sous une cloche et dans du sable calciné, le Trèfle et le Pois végètent vigoureusement, même en l'absence d'azote miné-

(1) Boussingault, *Ann. Ch.* [2], t. LXVII, 1838, p. 5 ; *id.* [3], t. XLI, p. 5 ; *id.* [3], XLIII, p. 149. — *Agronomie*, t. I, p. 283.

ral fixé sur le sol; bien plus, ces plantes accusent une augmentation de la quantité d'azote qu'elles renfermaient.

Au contraire, le Froment, placé dans les mêmes conditions, ne tarde pas à périr, et l'Avoine accuse une légère perte de son azote initial. Cependant, à la suite de nouvelles expériences, Boussingault conclut à la non-absorption de l'azote atmosphérique.

Georges Ville (1) arrive à des résultats contraires, et ses expériences, répétées devant une commission de l'Académie des sciences, le conduisent à formuler cette conclusion que les plantes peuvent fixer l'azote libre de l'atmosphère.

Après avoir été délaissée pendant longtemps, la question de la fixation de l'azote a été reprise récemment, et elle a fourni la matière de nombreux travaux.

Berthelot (2) fait une étude magistrale de la fixation de l'azote par le sol, et il constate que cette fixation n'a lieu que par suite d'une action microbienne.

De son côté, Hellriegel (3) montre que les sources d'azote offertes par l'atmosphère suffisent à produire chez les Légumineuses un développement normal; c'est, d'après lui, l'azote libre qui entre en jeu, grâce aux tubercules radicaux et à la présence de micro-organismes.

Hellriegel et Vilfarth (4) précisent ensuite ces faits; ils admettent que cette action repose sur une symbiose des micro-organismes et des Légumineuses, et qu'à chaque Légumineuse doit correspondre un micro-organisme spécial.

Frank (5) croit que l'azote élémentaire de l'air est fixé par les végétaux, mais que ce gain est compensé par un

(1) G. Ville, *Recherches expérimentales sur la végétation*, Paris, 1853. — *C. R.*, t. XXXI, p. 578; *ibid.*, t. XXXV, p. 464, 650; *ibid.*, t. XXXVIII, p. 705, 723. — *Ann. Ch.* [3], t. XLIX, p. 168.

(2) Berthelot, *Sur la fixation de l'azote atmosphérique sur la terre végétale* (*Ann. Ch.* [6], t. XIII, p. 5. — *Ann. Ch.* [6], t. XIV, p. 473).

(3) Hellriegel, *Landw. Versuchs-st.*, t. XXXIII, p. 464.

(4) Hellriegel et Vilfarth, *Beilagschr. zu der Zeitschr. des Vereins f. d. Rübenzuckerindustrie*, novembre 1888, p. 234.

(5) Frank, *Landw. Jahrb.*, t. XVII, 1888, p. 24. — *Chem. Centralbl.*, 1888, p. 1439.

processus contraire; il annonce, dans le même travail, le rôle fixateur exercé par les Algues vis-à-vis de l'azote atmosphérique.

Berthelot (1) précise les rapports de l'azote libre avec le sol sans culture, et il étend ses expériences à un sol ensemencé avec des Légumineuses; il montre les relations intimes qui existent entre le sol et les plantes au point de vue de la fixation et de la transmission de l'azote. Il montre également le rôle favorable de l'électricité dans la fixation de cet élément.

Ces travaux sont confirmés par Lawes et Gilbert (2) et par Pétermann (3).

D'autre part, les mesures rigoureuses effectuées par Schlœsing fils et Laurent (4) sur les gaz mis en présence des végétaux, donnent également une éclatante confirmation aux travaux de Hellriegel et Vilfarth et de Berthelot.

De leur côté, Nobbe et Hiltner (5), Vuillemin (6), Schlœsing fils et Laurent (7), Prazmowski (8), Tschirch (9), Marshall Ward (10), Frank (11), Beyerinck (12), Laurent (13), Vilfarth (14), étudient tour à tour les nodosités à bactéries des Légumineuses, instituent des expériences d'inoculation

(1) Berthelot, *Ann. Ch.* [6], t. XVI, p. 453. — *Id.* [6], t. XIX, p. 433. — *Id.* [6], t. XXX, p. 448.

(2) Lawes et Gilbert, *Jahresb. f. agrik. Ch.*, t. VIII, p. 25. — *Proceed. Roy. Society*, t. XLVII, 1890, p. 85.

(3) Pétermann, *Mém. Acad. roy. de Belgique*, t. XLVII, 1892, 8°, 37, p. 1.

(4) Schlœsing fils et Laurent, *Ann. Inst. Pasteur*, t. VI, p. 65.

(5) Nobbe et Hiltner, *Landw. Versuchs-st.*, t. XLV, p. 153.

(6) Vuillemin, *Ann. Sc. agr.*, 1881, t. I, p. 121.

(7) Schlœsing fils et Laurent, *Ann. Inst. Pasteur*, t. VI, p. 65.

(8) Prazmowski, *Ann. agr.*, t. XV, p. 137; t. XVI, p. 44. — *Landw. Versuchs-st.*, t. XXXVII, p. 161.

(9) Tschirch, *Fortschritte d. Agrik. Physik*, t. X, p. 230. — *Berichte bot. Gesell.*, t. V, p. 58.

(10) Marshall Ward, *Ann. agr.*, t. XV, p. 137; *id.*, t. XVI, p. 331.

(11) Frank, *Berichte bot. Gesell.*, t. VI, 1839, p. 322. — *Landw. Jahrb.*, t. XIX, p. 523.

(12) Beyerinck, *Jahrb. Agrikult.*, t. XI, p. 119. — *Fortschritte d. Agrik. Physik*, t. XII, p. 105. — *Ann. agr.*, t. XV, p. 90.

(13) Laurent, *Ann. Inst. Pasteur*, t. V, 1891, p. 105.

(14) Vilfarth, *Bot. Centralbl.*, t. XXII, p. 181.

et cherchent à établir les rapports qui existent entre les bactéroïdes et la plante support.

Enfin Winogradski (1) isole un microbe fixateur de l'azote sur le sol. Ce micro-organisme est un *Clostridium* auquel il donne le nom de *C. Pasteurianum*, et qu'il montre être un ferment butyrique. On a découvert depuis que le *Bacillus megatherium* était susceptible de jouer le même rôle fixateur d'azote.

La résultante de ces divers mémoires est donc ce fait, actuellement hors de doute, que l'azote libre peut être directement fixé par certaines plantes, particulièrement par les Légumineuses, mais seulement avec le concours d'une action microbienne. Il en découle également que les micro-organismes peuvent être les agents de la fixation de l'azote atmosphérique sur le sol lui-même.

La constatation de ces divers faits présente une importance capitale, car elle rend compte des précautions à observer pour faire une culture de plantes en vue d'y étudier l'assimilation de l'azote, si l'on veut se mettre complètement à l'abri des causes d'erreur extérieures.

D'autre part, les travaux de Bréal (2), Frank (3), Schlœsing fils et Laurent (4), Kossowitch (5), Koch et Kossowitch (6), Bouilhac (7), etc., montrent que les Algues peuvent aussi opérer une fixation d'azote, mais seulement lorsqu'elles vivent en symbiose avec certaines bactéries du sol.

Il y a donc là encore un écueil à éviter dans les cultures.

— Quant à l'étude de la nutrition des végétaux à l'aide de matériaux azotés puisés dans le sol, le nombre des mémoires

(1) Winogradski, *C. R.*, t. CXVI, p. 1385. — *Id.*, t. CXVIII, p. 355. — *Arch. Soc. biol. Saint-Petersbourg*, t. III, 1895, n° 4.

(2) Bréal, *Observations sur les Algues d'eau douce* (*Ann. agr.*, 1886, 12, p. 317).

(3) Frank, *Jahresb. f. Agrik. Ch.*, t. XII, p. 49.

(4) Schlœsing fils et Laurent, *Ann. Inst. Pasteur*, t. VI, p. 824.

(5) Kossowitch, *Bot. Zeit.*, 1892, 43, 47. — *Untersuch. über die Frage ob die Algen freien Stickstoff fixiren* (*Bot. Zeit.*, 1894, p. 97).

(6) Koch et Kossowitch, *Bot. Zeit.*, 1893, n° 21, p. 321.

(7) Bouilhac, *C. R.*, 1897, t. CXXV, p. 880.

est très important, mais la plupart ne s'occupent que de l'azote minéral.

La nutrition à l'aide des substances organiques n'a donné lieu qu'à un petit nombre de travaux parmi lesquels il convient de signaler les suivants :

Georges Ville (1) remarque que les végétaux peuvent assimiler les chlorhydrates de méthylamine et d'éthylamine qui, à quantité égale d'azote, produiraient autant d'effet sur la végétation que le chlorhydrate d'ammoniaque. Mais les expériences de Ville ont été effectuées à une époque où l'industrie n'avait pas réussi à préparer à l'état de pureté absolue les produits qu'il employait, et, d'autre part, on ne connaissait que d'une manière fort imparfaite le rôle des micro-organismes, contre lesquels il n'a pris aucune précaution. Ces expériences ne présentent donc pas la rigueur scientifique nécessaire.

Pasteur (2), de son côté, aurait aussi observé la possibilité de nourrir les Mucédinées à l'aide de l'éthylamine.

Frank (3), s'occupe de la nutrition à l'aide de l'urée, de l'acide urique, de l'acide hippurique, du glycocolle, de la créatine, de la leucine, de la tyrosine, de la guanine, de l'asparagine et de certains alcaloïdes. Il constate en particulier que ces dernières substances ne sont pas assimilables.

Raulin (4), étudiant la végétation de l'*Aspergillus niger* dans des milieux artificiels contenant des dérivés de l'aniline, constate que les sels d'aniline et de rosaniline ne permettent pas le développement de cette Mucédinée. Rapprochant ces résultats de ceux obtenus par G. Ville et Pasteur, il se demande si ce fait n'est pas lié à ce que les corps qu'il étudie appartiennent à la série aromatique.

(1) G. Ville, *Définir par la végétation l'état moléculaire des corps* (C. R., t. LVII, p. 464).

(2) Pasteur, cité par Raulin, C. R., 20-27 août 1888.

(3) Frank, *La statistique de l'azote en agriculture* (Landw. Jahrb., 1888, p. 421. — Trad. complète dans Ann. Sc. agr., 1888, 2^e sem., p. 24).

(4) Raulin, *Observation sur l'action des micro-organismes sur les matières colorantes* (C. R., 20-27 août 1888).

L'atropine, considérée comme substance susceptible d'être employée pour la nutrition des végétaux, est un des alcaloïdes qui ont donné lieu au plus grand nombre de recherches.

Déjà, en 1834, Göppert (1) admet que l'atropine n'exerce sur les plantes aucune action, ni bonne ni funeste.

Maracci (2) constate que l'atropine est plutôt nuisible pour les plantes qui végètent à son contact.

De Varigny (3) fait des expériences comparatives sur des germinations effectuées soit dans la terre, soit dans des solutions diverses de sulfate d'atropine ou dans l'eau. Ces recherches, qu'il ne fait malheureusement suivre d'aucun dosage, l'amènent à penser que l'atropine n'est pas favorable à la germination et qu'elle ne joue pas dans le développement de la jeune plante le rôle d'engrais qui lui était accordé.

A un point de vue plus général, on peut citer les observations de Réveil (4), qui avait remarqué qu'en arrosant les plantes avec les solutions salines de leurs propres alcaloïdes on n'arrivait qu'à les faire mourir.

D'autre part, les expériences de Cornevin (5) et de Heckel (6) sur la germination des graines de plantes à alcaloïdes, constatent, dans certains cas, la disparition de ces substances; elles tendraient donc à prouver que ces corps ne sont pas de simples produits d'excrétion et qu'ils peuvent parfois être considérés comme des réserves nutritives azotées pour la jeune plante.

Plus récemment, Bokorny (7) étudie la nutrition orga-

(1) Göppert, *Froriep's Notizen*, 1834.

(2) Maracci, *L'azione degli Alcaloidi nel regno vegetale et animale*, 1887.

(3) De Varigny, *L'atropine est-elle un engrais végétal?* (*Rev. gén. de Bot.*, t. IV, 1892).

(4) Réveil, *De l'action des poisons sur les plantes*. Lyon, 1865.

(5) Cornevin, *Des plantes vénéneuses et des empoisonnements qu'elles déterminent*, 1887.

(6) Heckel, *C. R.*, 1890.

(7) Bokorny, *Ueber die organische Ernährung grüner Pflanzen und ihre Bedeutung in der Natur* (*Biol. Centralbl.*, t. XVII, 1897, p. 1).

nique des végétaux, surtout à l'aide des hydrates de carbone, des alcools, des acides; il se sert des Algues comme plantes d'étude, et ne rentre dans le sujet des alcalis organiques qu'avec le sulfate de triméthylamine. Il voit des *Spirogyra* se développer dans un liquide nutritif renfermant ce composé.

Schimper (1) et Emmerling (2) s'occupent aussi des substances organiques, mais en tant que substances formées dans les tissus de la plante aux dépens de l'acide nitrique du sol, et servant de termes de migration de l'azote dans ces tissus.

Demoussy (3) effleure également cette question en étudiant la nitrification des ammoniacales composées; il admet que cette transformation ne se produit que lorsque l'oxygène, sous l'influence des ferments du sol, a brûlé tout le carbone de ces composés et les a amenés à l'état d'ammoniaque. Cette métamorphose est d'autant plus lente que la base organique est plus complexe et renferme plus de carbone.

A part ces quelques observations, on s'accordait, jusqu'à ces dernières années, à admettre que, pour que l'assimilation des substances organiques eût lieu, il fallait que ces substances subissent au préalable une série de fermentations ayant pour effet de les transformer d'abord en sels ammoniacaux (fermentation ammoniacale), lesquels étaient à leur tour transformés par le ferment nitrique en nitrates directement assimilables.

Mais, plus récemment, Müntz (4), reconnut que les sels ammoniacaux pouvaient être directement assimilés par la plante sans avoir besoin de subir une nitrification préalable.

Tel était l'état de la question lorsque je résolus de re-

(1) Schimper, *Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze* (Flora, t. LXXIII, Heft III, p. 207).

(2) Emmerling, *Beiträge zur Kenntniss der chem. Vorgänge in der Pflanze* (Landw. Versuchs-st., 1884).

(3) Demoussy, *Nitrification des ammoniacales composées* (C. R., 17 janvier 1898).

(4) Müntz, *Sur le rôle de l'ammoniaque dans la nutrition des végétaux* (C. R., t. CIX, p. 646).

chercher si les composés organiques formant la classe des amines et des ammoniums composés, et celle des alcaloïdes étaient susceptibles d'être assimilés par les plantes, et si leur assimilation pouvait avoir lieu directement, sans fermentation préalable, ainsi que M. Müntz l'avait constaté pour les sels ammoniacaux.

Qu'il me soit cependant permis, avant d'entrer dans l'exposé de ces recherches, d'exprimer mes plus vifs remerciements à mon maître, M. le professeur Guignard, pour les bienveillants conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer dans le cours de cette étude.

Je remercierai également d'une manière toute particulière M. André, professeur à l'Institut agronomique, qui a bien voulu me faire profiter de sa haute compétence dans ces questions et mettre à ma disposition de nombreux renseignements bibliographiques.

Les expériences qui suivent ont porté sur les Phanérogames, les Algues et les Champignons. Elles ont été faites et poursuivies au Laboratoire de botanique de l'École de pharmacie de Paris.

CHAPITRE PREMIER

NUTRITION DES PHANÉROGAMES.

Expériences préliminaires.

Dans ces expériences préliminaires, je me suis proposé de chercher si, dans les conditions ordinaires de culture, les plantes étaient susceptibles de puiser leur azote dans des substances organiques appartenant au groupe des amines, puis de rechercher si ces substances avaient subi une transformation précédant leur absorption.

Je me réservais, au cas où ces premières expériences me donneraient des résultats positifs, d'instituer des expériences définitives, en prenant des précautions spéciales destinées

à éliminer toute action microbienne, soit fixatrice d'azote, soit productrice de fermentations.

Expérience I. — Cette première expérience a été exécutée à l'aide de semences de *Cucurbita maxima*, mises à germer dans un sol contenant de l'azote à l'état de chlorhydrate de triméthylamine. Ce dernier m'a été offert gracieusement par mon excellent ami Delépine, à l'état chimiquement pur et bien exempt d'ammoniaque et des autres méthylamines.

On sait, depuis les travaux de Delépine (1), que l'emploi de l'aldéhyde formique constitue un moyen aussi élégant que rapide et précis d'arriver à ce résultat.

Les semences de *Cucurbita* ont été triées et échantillonnées soigneusement, puis divisées en deux lots, l'un réservé pour l'analyse, l'autre pour la culture.

Les graines de ce dernier lot ont été plantées dans du sable siliceux, lavé et calciné au moment de l'expérience, et contenu dans un pot également calciné. Le sable a été humecté avec le liquide suivant, modification de l'engrais complet proposé par M. le professeur Gérard (de Lyon) :

Biphosphate d'ammoniaque..	2 gr.	Sulfate de manganèse.....	0,10
Chlorure de potassium.....	0,25	Chlorhydrate de triméthyl-	
Sulfate de chaux.....	0,50	amine.....	3 g.
— de fer.....	0,50	Eau distillée(exempte d'ammo-	
— de magnésie.....	0,50	niaque).....	4000

L'autre lot a été séché à l'étuve, puis pesé et analysé.

Le *poids moyen d'une graine* a été trouvé de 137 milligrammes.

Dosage de l'azote total contenu dans une graine avant la germination. — Ce dosage a été effectué par la méthode de Dumas.

Plusieurs graines, séchées à l'étuve, puis pulvérisées soi-

(1) Delépine, *Sur une nouvelle méthode de séparation des méthylamines*. (Bull. Soc. ch. de Paris, 3^e série, t. XV, p. 701, 1896).

gneusement, ont été analysées après séjour à l'exsiccateur.

Poids de substance prélevé.....	470 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	44 ^{cc} ,0
T = 21°,5.	
Pr. atm. = 765 ^{mm} .	

Le poids d'azote total contenu dans une graine est par suite :

$$P = 10^{\text{mgr}},3.$$

Le lot de graines, plantées dans le sable le 23 mai 1896, a commencé à germer le 3 juin. L'humidité a été entretenue à l'aide de la solution nutritive ci-dessus.

Le 2 juillet, il est prélevé un échantillon moyen des plantes qui sont séchées à l'étuve, puis analysées.

A. Poids moyen d'une plante sèche, 350 milligrammes.

Gain par rapport au poids sec initial de la graine
 $0,350 - 0,137 = 213$ milligrammes.

B. *Dosage de l'azote total contenu dans une plante.* — Le lot de plantes prélevé, analysé par la méthode de Dumas, a donné les résultats suivants :

Poids de substance prélevé.....	472 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	8 ^{cc} ,0
T = 23°.	
Pr. atm. = 765 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 18^{\text{mgr}},9.$$

Soit, par rapport à la graine, un *gain* d'azote total de

$$18,9 - 10,3 = 8^{\text{mgr}},6.$$

La plante avait donc emprunté au substratum une certaine quantité d'azote qui, selon toutes probabilités, devait provenir du sel de triméthylamine.

Il s'agissait alors de savoir si ce gain d'azote était réellement dû à de l'azote assimilé ou bien s'il n'était dû qu'à des matériaux azotés simplement interposés mécaniquement dans les tissus.

Pour résoudre cette question, j'ai disposé un poids

déterminé de poudre de plantes sur un entonnoir taré dont la douille était garnie de coton de verre. La poudre a été épuisée par l'eau bouillante, puis l'entonnoir a été essoré à la trompe, séché à l'étuve et finalement pesé.

Poids de l'entonnoir et du coton de verre.....	11 ^{gr} ,000
— de la poudre mise en expérience.....	0 ^{gr} ,310
— total de la poudre et de l'entonnoir.....	11 ^{gr} ,310
— de la poudre et de l'entonnoir après lavage et dessiccation.....	11 ^{gr} ,476
Perte.....	0 ^{gr} ,166

Le résidu de poudre resté sur l'entonnoir, soit 176 milligrammes, a été analysé par la méthode de Dumas.

Poids de substance prélevé.....	0 ^{gr} ,083
Volume d'azote recueilli.....	4 ^{cc} ,5
T = 23°.	
Pr. atm. = 775 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans les 176 milligrammes de poudre analysée était donc :

$$P = 11^{\text{mgr}},15.$$

Ceci revient à dire que le poids primitif de poudre non épuisée par l'eau, soit 310 milligrammes, contenait précisément ce poids (11^{mgr},15) d'azote à l'état insoluble.

Par suite, une plante pesant 350 milligrammes contient :

$$P = \frac{11,15 \times 350}{310} = 12^{\text{mgr}},6$$

d'azote à l'état de combinaison insoluble.

Ce poids excède encore de

$$12,6 - 10,3 = 2^{\text{mgr}},3$$

le poids de l'azote total d'une graine. Il y a donc bien eu gain d'azote assimilé.

Expérience II. — Cette première expérience ayant donné des résultats positifs en ce qui concerne l'absorption de la triméthylamine par les plantes et leur faculté d'y végéter, j'ai entrepris une seconde expérience dans le but de préciser cette absorption et d'élucider la forme sous laquelle la triméthylamine était assimilée.

Le problème multiple à résoudre était celui-ci :

1° La plante gagne-t-elle de l'azote?

2° S'il y a gain d'azote, la quantité de cet élément fixée à l'état de combinaison azotée organique par la plante est-elle simplement due à une interposition mécanique de la triméthylamine dans les tissus, autrement dit y a-t-il dans les tissus de la plante une quantité de triméthylamine moindre que celle nécessaire pour représenter la totalité du gain d'azote?

3° Y a-t-il eu nitrification du sel de triméthylamine dans le sol avant son absorption?

4° Y a-t-il eu formation préalable de nitrates dans les tissus mêmes de la plante aux dépens du sel organique, autrement dit la plante est-elle capable, *par ses propres moyens*, de transformer l'azote aminé en azote nitrique?

5° Les sels employés ont-ils subi une fermentation ammoniacale dans le sol, et par suite ont-ils été transformés en sels ammoniacaux avant leur absorption par la plante?

Pour étudier ces questions diverses, j'ai repris un certain nombre de graines de *Cucurbita maxima*, provenant du même lot que celles employées dans le premier essai, et je les ai mises en expérience de la manière suivante :

Un premier lot a été planté dans du sable siliceux lavé, puis calciné au rouge au moment de l'expérience et contenu dans un pot également calciné au rouge, puis refroidi à l'abri de l'air.

Le sable est additionné d'un engrais composé d'après les formules suivantes :

a. *Solution mère ne contenant pas d'azote* (1) :

Biphosphate de potasse.....	8	Sulfate de magnésie.....	2
Chlorure de potassium.....	1	— de manganèse....	0,40
Sulfate de chaux.....	2	Eau distillée privée d'am-	
— de fer.....	2	moniaque.....	400

(1) Cette formule diffère de celle de M. Gérard par l'absence d'azote et par sa plus grande concentration.

b. *Engrais employé :*

Solution mère ci-dessus.....	25 ^{cc}
Chlorhydrate de triméthylamine.....	0 ^{gr} ,25

Le pot est placé sur une table, près d'une fenêtre, à la température ordinaire, et l'humidité est entretenue à l'aide d'eau distillée bien exempte d'ammoniaque.

Un deuxième lot a été traité de la façon suivante, afin d'éviter l'action des ferments nitriques ou ammoniacaux au cas où ils auraient pu être apportés par l'atmosphère ou même par les graines.

Les graines, lavées soigneusement à l'eau distillée, ont été immergées pendant cinq minutes dans une solution aqueuse de sublimé à $\frac{1}{2000}$, puis plantées tout humides dans du sable calciné avec les précautions indiquées plus haut. Ce sable était renfermé dans un cristallisoir de verre, préalablement lavé au sublimé, et le tout placé dans une étuve neuve, passée entièrement au sublimé à l'intérieur. Cette étuve est maintenue à la température ordinaire. Date de l'ensemencement : 22 juillet 1896.

La germination, dans les deux cas, s'est effectuée dans de très bonnes conditions, et, le 6 août, chacun des pots a reçu par voie d'arrosage 0^{gr},10 de chlorhydrate de triméthylamine.

Le 18 août, deux plantes de chaque pot sont prélevées, séchées à l'étuve, pesées et analysées.

a. *Plantes ayant poussé à l'air libre sans traitement préalable par le sublimé :*

Poids des deux plantes sèches, 0^{gr},317

Soit pour l'une $\frac{0,317}{2} = 158^{\text{mg}},5$.

Ce qui représente sur le poids sec de la graine un gain de :

$$158,5 - 137 = 21^{\text{mg}},5$$

Dosage de l'azote total (méthode de Dumas) :

Poids de substance prélevé.....	433 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	9 ^{cc} ,0
T = 22°.	
Pr. atm. = 773 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc de :

$$P = 12^{\text{mgr}}, 15.$$

Soit, par rapport à l'azote initial de la graine, un gain de :

$$12,5 - 10,3 = 1^{\text{mgr}}, 85.$$

b. *Plantes ayant poussé dans l'étuve et après traitement au sublimé :*

Poids des deux plantes sèches....	0 ^{gr} ,485
Soit pour l'une $\frac{485}{2}$	= 242 ^{mgr} ,5.

Gain par rapport au poids sec de la graine :

$$242,5 - 137 = 105^{\text{mgr}}, 5.$$

Dosage de l'azote total (méthode de Dumas) :

Poids de substance prélevé.....	472 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	13 ^{cc} ,4
T = 22°.	
Pr. atm. = 753 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est, par suite :

$$P = 20^{\text{mgr}}, 7.$$

Soit, par rapport à l'azote initial de la graine, un gain de :

$$20,7 - 10,3 = 10^{\text{mgr}}, 4.$$

Les plantes contenaient-elles dans leurs tissus de l'azote nitrique? — Pour résoudre cette question, j'ai prélevé un échantillon de la poudre des plantes de chacun des lots. Cet échantillon a été épuisé par l'eau bouillante, et le tout jeté sur un filtre Berzélius lavé longuement à l'eau distillée et essoré à la trompe.

Le liquide filtré est ensuite essayé par la méthode de

Schlœsing pour le dosage de l'azote nitrique à l'état de bioxyde d'azote. Les poids essayés ont été de :

140 milligrammes pour le lot ayant poussé à l'air libre ;

302 milligrammes pour le lot ayant poussé dans l'étuve.

Il a été recueilli, dans les deux cas, 30 c.c. de colature qui ont été analysés.

Dans aucun des deux cas il ne s'est dégagé la moindre trace de bioxyde d'azote. Il n'y avait donc dans les plantes aucune trace d'azote nitrique.

Y a-t-il eu nitrification de la triméthylamine dans le sol préalablement à son absorption par les plantes ?

Pour faire cette recherche, j'ai prélevé des échantillons copieux des sols et je les ai épuisés par lixiviation au moyen d'eau distillée. Les liqueurs ont été ensuite essayées par la méthode de Schlœsing. Il ne s'est pas dégagé la moindre trace de bioxyde d'azote. Il n'y avait donc pas eu de nitrification dans le sol.

L'azote gagné par les plantes était-il dû à de la triméthylamine introduite par osmose dans les tissus sans y avoir subi de modifications, ou bien était-il partiellement ou totalement à l'état de combinaison d'une nature différente ?

Expérience I. — Cette expérience a été effectuée sur le lot de plantes ayant poussé à l'étuve, le 20 août 1896.

Je me suis fondé sur ce fait que les sels de méthylamines et d'éthylamines (les premiers termes de la série), traités par la potasse, laissent dégager leur azote à l'état d'ammoniaque absolument comme les sels ammoniacaux.

L'opération a donc été faite de la manière suivante :

Dans un ballon muni d'un court réfrigérant à reflux, afin d'éviter l'entraînement mécanique de potasse par la vapeur d'eau, j'ai introduit un poids déterminé de plantes fraîches broyées avec de l'eau distillée, et de la potasse caustique ; le mélange est porté à l'ébullition et les gaz recueillis dans une solution titrée d'acide sulfurique.

Lorsque tout le gaz ammoniac a fini de se dégager, un nouveau titrage de l'acide sulfurique permet de connaître la

quantité d'ammoniaque qui s'est dégagée, et, par suite, la quantité de triméthylamine contenue dans les plantes.

Expérience. — Trois plantes fraîches pesant 7^{gr},320 sont distillées en présence de potasse. Les gaz sont recueillis dans 10 c.c. d'une solution normale d'acide sulfurique contenant 45 grammes d'acide monohydraté par litre.

Le titrage final sera fait à l'aide d'une solution de potasse telle que 10 c.c. d'acide sulfurique normal (à 49 grammes par litre) exigent, pour être saturés, 277 div. d'une burette (en 1/10 de c.c.) de solution de potasse.

Après dégagement total de l'ammoniaque, la solution sulfurique a été additionnée d'une goutte de phtaléine du phénol et titrée de nouveau à l'aide de la solution de potasse.

Il a fallu 273 div. de la burette pour obtenir la saturation.

Comme 277 div. correspondent à 10 c.c. d'acide normal,

273 div. correspondent à $\frac{10 \times 273}{277}$ centimètres cubes.

Et comme 10 c.c. d'acide normal contiennent 0^{gr},49 d'acide monohydraté,

$\frac{10 \times 273}{277}$ centimètres cubes en contiennent $\frac{0,49 \times 10 \times 273}{277} = 0^{\text{gr}},4864$.

Il y a donc eu

$$0,49 - 0,4864 = 0^{\text{gr}},003^{\text{mgr}},6$$

d'acide sulfurique saturé par l'ammoniaque.

Le poids d'ammoniaque correspondant est de

$$\frac{3,6 \times 17}{49} = 1^{\text{mgr}},23.$$

Il renferme

$$\frac{1,23 \times 14}{17} = 1^{\text{mgr}},03 \text{ d'azote.}$$

Une plante du poids moyen de $\frac{7,320}{3} = 2^{\text{gr}},44$ contient donc $\frac{1,03}{3} = 0^{\text{mgr}},343$ d'azote à l'état de triméthylamine.

Par suite, une plante pesant 3^{gr},11 (poids moyen d'une des plantes analysées pour l'azote total) en contiendrait :

$$\frac{0,343 \times 3,11}{2,44} = 0^{\text{mgr}},44.$$

Il y a donc eu un *gain réel d'azote assimilé* de :

$$10,4 - 0,437 = 9^{\text{mgr}},963.$$

Expérience II. — Ne pouvant faire cette recherche sur l'autre lot que quelques jours plus tard, j'ai ajouté, le 20 août 1896, à ce pot, par voie d'arrosage, 0^{gr},15 de chlorhydrate de triméthylamine et 25 c.c. de la solution mère sans azote signalée plus haut.

Le 30 août, j'ai refait les mêmes essais que précédemment, mais, pour rendre les résultats comparables, j'ai procédé à un nouveau dosage de l'azote total.

Dosage de l'azote total (méthode de Dumas) :

Deux plantes fraîches, pesant 4^{gr},15, soit 2^{gr},075 l'une, ont donné un poids sec de 375 milligrammes, soit, pour une plante, 187^{mgr},5.

Il y a donc eu un gain de substance de

$$187^{\text{mgr}},5 - 135 = 40^{\text{mgr}},5.$$

Poids de substance prélevé..... 150^{mgr}

Volume d'azote recueilli..... 9^{cc},0

T = 15°.

Pr. atm. — 769^{mm}.

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc de :

$$P = 43^{\text{mgr}},225.$$

Soit un gain, par rapport à l'azote initial de la graine, de :

$$43,225 - 10,3 = 2^{\text{mgr}},925.$$

Dosage de l'azote à l'état de triméthylamine. — Cet essai n'a pu porter que sur une seule plante pesant 1^{gr},160.

La solution de potasse employée est telle que 276 div. de la burette saturent exactement 10 c.c. d'acide sulfurique normal à 49 grammes par litre.

La plante a été traitée par la potasse, comme il est dit plus haut, et les gaz recueillis dans 10 c.c. d'acide sulfurique normal.

Au titrage final, il a fallu, pour saturer les 10 c.c. d'acide, 276 div. (un peu faible) de la burette. Il n'y a donc, dans les

plantes du deuxième lot, que des traces d'azote à l'état de triméthylamine.

S'était-il produit dans le sol une fermentation ammoniacale dont l'effet aurait été la transformation en sel ammoniacal du sel de triméthylamine employé ?

Le seul procédé applicable, pour la recherche des sels ammoniacaux en présence d'amines ou de sels d'amines, consiste dans l'emploi du réactif de Nessler. Cet essai, quoique qualitatif, n'en est pas moins d'une grande précision, étant donnée la sensibilité du réactif qui, en présence de traces d'ammoniaque ou de sels ammoniacaux, donne un précipité rouge-brique, tandis qu'avec les amines il ne donne pas de précipité (termes inférieurs de la série), ou bien donne un précipité blanc ou jaune (termes supérieurs).

L'expérience consistait donc à lixivier le sol avec de l'eau distillée bien exempte d'ammoniaque, et à essayer, par le réactif de Nessler, le produit de la lixiviation.

Dans ces conditions, il ne s'est produit aucun précipité par le réactif de Nessler. Le sol, et par suite le sel de triméthylamine, n'avait donc pas subi de fermentation ammoniacale antérieurement à son absorption par la plante.

En résumé, ces expériences préliminaires ont montré que des plantes, placées dans un milieu nutritif azoté à base de triméthylamine, étaient susceptibles d'assimiler de l'azote.

Cette assimilation avait eu lieu sans que l'on puisse déceler ultérieurement, soit dans le sol, soit dans la plante, de produits résultant d'une fermentation nitrique ou ammoniacale.

Il restait à préciser les conditions de cette assimilation en se mettant à l'abri des causes d'erreurs provenant d'agents extérieurs, et à étendre ces expériences à toute la série des amines, des ammoniums composés et des alcaloïdes. Ces recherches font l'objet de la seconde partie de ce chapitre.

Expériences définitives.

Avant d'entreprendre les expériences définitives, j'ai com-

mencé par faire choix des plantes à l'aide desquelles seraient effectuées ces recherches.

Il était en effet nécessaire de prendre des plantes qui ne fussent pas des Légumineuses, puisque ces plantes fixent l'azote atmosphérique; il fallait, en outre, que les graines fussent assez grosses pour que l'échantillonnage se fit facilement avec exactitude; enfin que leur croissance fût rapide, afin de diminuer les chances de contamination du sol.

Je me suis arrêté aux plantes suivantes :

Cucurbita maxima, *Zea Maïs*, *Cucumis prophetarum*, *Helianthus annuus*, *Ipomœa purpurea*, *Cnicus benedictus*, *Cucumis Melo*.

Les graines ont tout d'abord été soumises à l'analyse.

A cet effet, il a été choisi dix graines de chaque espèce, prises aussi moyennes que possible dans un lot de graines fournies uniquement par la même plante. De la sorte, les graines qui seront plantées ensuite présenteront aussi exactement que possible la même composition que le type analysé.

J'ai déterminé le poids sec moyen d'une graine et sa teneur en azote total. Tous les dosages d'azote ont été effectués par la méthode de Dumas. Je n'entrerai pas dans le détail des analyses et mentionnerai seulement les résultats.

Analyse des graines.

I. — *Cucurbita maxima*.

Poids moyen sec d'une graine.....	437 ^{mgr}
Azote total contenu dans une graine..	40 ^{mgr} ,3

II. — *Zea Maïs*.

La variété de Maïs utilisée pour ces recherches est celle que l'on désigne en agriculture sous le nom de *Maïs blanc*.

Poids sec d'une graine.....	134 ^{mgr} ,5
Azote total d'une graine.....	4 ^{mgr} ,53

III. — *Cucumis prophetarum*.

Poids sec d'une graine.....	153 ^{mgr} ,2
Azote total d'une graine.....	44 ^{mgr} ,47

IV. — *Helianthus annuus*.

Poids sec d'une graine.....	63 ^{mgr} ,8
Azote total d'une graine.....	3 ^{mgr} ,10

V. — *Ipomæa purpurea*.

Poids sec d'une graine.....	26 ^{mgr}
Azote total d'une graine.....	1 ^{mgr} ,26

VI. — *Cnicus benedictus*.

Poids sec d'une graine.....	21 ^{mgr} ,8
Azote total d'une graine.....	1 ^{mgr} ,40

VII. — *Cucumis Melo*.

Poids sec d'une graine.....	47 ^{mar}
Azote total d'une graine.....	3 ^{mgr} ,03

Appareil et modes de culture.

Ceci posé, il fallait instituer les expériences de telle sorte que l'on fût à l'abri de toutes les causes d'erreurs extérieures provenant de l'apport, soit par les poussières atmosphériques, soit par l'eau d'arrosage, de matériaux azotés ou de ferments susceptibles de fixer sur le sol l'azote atmosphérique.

Pour atteindre ce but, je me suis servi de l'appareil suivant :

Un cristalliseur de grandes dimensions renferme une certaine quantité d'une solution aqueuse de sublimé à $\frac{1}{2000}$.

Dans la solution plonge la partie inférieure d'une cloche à douille de forme haute, portant à la partie supérieure un bouchon en caoutchouc qui donne passage à deux tubes dont l'un plonge jusqu'à la partie inférieure, l'autre jusqu'à la partie supérieure. Les deux tubes présentent un renflement garni de coton au sublimé.

Les parois intérieures de la cloche, le bouchon, les tubes de verre, tant à l'extérieur qu'à leur intérieur, ont été passés soigneusement au sublimé à $\frac{1}{300}$; la cloche a été renversée tout humide sur le cristalliseur. Le coton des tubulures a été également imprégné de cette solution de sublimé à $\frac{1}{300}$.

Dans l'intérieur de la cloche est disposé un cristallisoir paraffiné émergeant de la solution de sublimé. La paraffine a pour but de s'opposer au grimpage de la solution qui pourrait à la longue exercer une action nuisible sur les plantes. Néanmoins, le cristallisoir a été passé au sublimé à $\frac{1}{300}$ avant d'être introduit humide sous la cloche.

Sur ce cristallisoir sera disposée la culture dont la préparation est l'objet de précautions particulières.

Le pot est en terre et de forme basse (terrine). Il a été chauffé au rouge et refroidi sous une cloche dont l'extrémité inférieure repose dans une solution de sublimé, et qui a été elle-même passée au sublimé. De la sorte, la contamination du pot, par les poussières atmosphériques est évitée pendant le refroidissement.

Dans le pot se trouve du sable siliceux lavé, puis calciné au rouge dans le pot même, avec lequel il a été refroidi sous la cloche.

Le pot contenant le sable n'est retiré de la cloche à refroidir que dans une serre dont l'atmosphère est saturée d'humidité, et, par suite, ne contient pas de poussières en suspension. Cette opération ne s'effectue qu'au moment précis où sera faite la plantation.

L'opérateur, après s'être lavé soigneusement et longuement les mains dans du sublimé à $\frac{1}{300}$, dispose rapidement dans le sable les graines à expérimenter. Ces graines ont, auparavant, séjourné pendant cinq minutes *au moins* (1) dans



(1) Pour la plupart des graines, la durée de l'immersion a pu être prolongée pendant dix minutes sans trop d'inconvénients pour la germination.

une solution aqueuse de sublimé à $\frac{1}{2000}$, et elles sont plantées humides encore de cette solution.

On ajoute alors la solution nutritive spéciale à chaque culture qui a été préalablement stérilisée à l'autoclave à 120°, et la quantité nécessaire d'eau distillée rigoureusement exempte d'ammoniaque, et stérilisée également à 120°.

L'opérateur doit avoir soin de tenir ses mains constamment imbibées de sublimé, opérer aussi rapidement que possible, et ne pas oublier de flamber l'extrémité des fioles renfermant les liquides d'arrosage avant de les déboucher.

Tous les jours, l'air de la cloche est renouvelé au moyen d'un propulseur d'air adapté à l'une des tubulures. De la sorte, on n'introduit dans la cloche que de l'air privé de germes par son passage sur le coton au sublimé. L'air introduit a été, en outre, privé complètement des traces d'ammoniaque qu'il pourrait contenir.

L'expérience a montré, de plus, que, grâce à la fermeture hydraulique des cloches, l'évaporation était réduite au minimum et qu'il n'y avait pas lieu d'arroser de nouveau pendant la durée de l'expérience.

Les sels employés pour ces recherches sont préparés rigoureusement purs. Un certain nombre m'ont été gracieusement offerts par Delépine; les autres ont été préparés par saturation d'amines achetées *garanties pures*. Dans les deux cas, les sels obtenus ont été purifiés par plusieurs recristallisations dans l'alcool absolu, afin d'éliminer, entre autres produits, le chlorhydrate d'ammoniaque, qui est à peu près insoluble dans ce liquide.

Expériences de culture.

Ces expériences ont été exécutées dans l'appareil et avec les précautions indiquées plus haut, afin d'étendre avec autant de précision que possible, les résultats des expériences préliminaires à toutes les amines que j'ai réussi à me procurer, ainsi qu'aux sels d'ammoniums composés et aux alcaloïdes.

Lorsque la quantité de plantes recueillies l'a permis, j'ai procédé à plusieurs analyses dont les résultats sont alors donnés sous la forme de l'analyse moyenne. Je dois d'ailleurs ajouter que, grâce à la précision de la méthode de Dumas, les écarts obtenus entre deux analyses consécutives ont toujours été très faibles.

L'analyse des plantes a été suivie, dans tous les cas, d'un essai du sol, en vue d'y rechercher s'il avait été le siège d'une fermentation nitrique ou ammoniacale (1). Les résultats analytiques obtenus avec des plantes dont le substratum avait subi une fermentation, même légère, ont été systématiquement laissés de côté, de façon à ne présenter qu'un ensemble d'expériences aussi rigoureuses que possible.

Enfin, à plusieurs reprises, j'ai fait un examen bactériologique des sols de culture; toujours ils se sont montrés stériles; il n'y avait donc pas lieu de redouter une action microbienne due à une insuffisance de stérilisation des cultures.

Il aurait été intéressant d'analyser également les sols de culture au point de vue de leur teneur en azote après l'arrachage des plantes, puis de comparer les pertes ou les gains d'azote de ce sol aux gains ou aux pertes observés dans les plantes.

Mais, pour obtenir des résultats présentant quelque précision, il aurait fallu opérer avec beaucoup de plantes, de manière à avoir des différences considérables dans la teneur du sol en azote avant et après la culture.

D'autre part, il aurait fallu prendre des précautions spéciales contre toute perte de la substance azotée introduite dans le sol, et, pour cela, procéder notamment à des lavages des flacons où s'étaient préparées les solutions nutritives. Pour s'opposer à toute perte pendant la végétation, on aurait dû faire usage de vases en verre sans trou infé-

(1) La recherche de l'azote nitrique a été faite : qualitativement par les procédés au sulfate de fer et acide sulfurique, et au sulfate de diphénylamine; quantitativement par la méthode de Schlœsing. Celle des sels ammoniacaux s'est effectuée à l'aide du réactif de Nessler.

rieur, de manière à n'avoir aucun entraînement de sels par l'eau d'arrosage.

Toutes ces conditions sont contraires aux conditions d'asepsie rigoureuse exigées par ces recherches. Le grand nombre de graines rend leur stérilisation à peu près impossible, puisque, avec peu de graines, beaucoup d'expériences ont déjà dû être rejetées comme renfermant des micro-organismes ou des produits de fermentation. De même, les autres manipulations sont essentiellement défavorables à l'asepsie du milieu; aussi ai-je dû me borner à étudier les variations de l'azote dans les plantes, en laissant de côté leur comparaison avec celles qui ont pu se produire dans le sol, afin de ne pas compromettre le résultat final.

Voici maintenant l'exposé des différents essais.

I. — AMINES.

A. — AMINES ALCOOLIQUES.

Triméthylamine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Zea Maïs*, *Cucumis prophetarum*, *Helianthus annuus*, *Ipomæa purpurea*.

Zea Maïs.

Le 16 octobre 1896, 10 graines de Maïs ont été semées, avec les précautions indiquées plus haut, dans du sable additionné de l'engrais ci-après, stérilisé au préalable :

Solution mère sans azote (1).....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de triméthylamine.....	0 ^{gr} ,50

Le 27 septembre, 4 plantes ont été prélevées, séchées à l'étuve, pesées et analysées. Ces plantes, de même que dans les expériences suivantes, ont été choisies parmi celles qui

(1) La formule de cette solution a été donnée dans les expériences préliminaires.

ne présentaient aucune trace d'altération extérieure, afin de se rapprocher le plus possible de l'échantillon type prélevé pour l'analyse des graines.

1° Poids sec d'une des plantes, 162 milligrammes.

Ceci représente, par rapport au poids sec d'une graine, un *gain* de :

$$162 - 134,5 = 27^{\text{mgr}},5.$$

2° *Dosage de l'azote total contenu dans une plante :*

Poids de substance prélevé.....	228 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	6 ^{cc} ,9
T = 19°	
Pr. atm. = 740 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est, par suite :

$$P = 5^{\text{mgr}},51.$$

Ceci représente par rapport à l'azote initial de la graine un *gain* de 5,51 — 4,53 = 0^{mgr},98, soit 22,2 p. 100.

Le sol a été ensuite lixivié par de l'eau distillée rigoureusement exempte d'ammoniaque, et le liquide a été essayé au point de vue de la fermentation nitrique par la méthode de Schlœsing et à celui de la fermentation ammoniacale par le réactif de Nessler.

Ces deux essais ont donné des résultats négatifs. La triméthylamine avait donc bien été assimilée sans avoir subi de transformation dans le sol.

Cucumis prophetarum.

Le 16 avril 1897, 10 graines de *Cucumis prophetarum* ont été semées dans du sable additionné d'un engrais analogue à celui de l'expérience précédente.

L'expérience a été arrêtée le 15 mai ; j'ai recueilli 4 plantes ainsi que les téguments de leurs graines.

1° Poids sec moyen d'une plante, 165^{mgr},75.

Soit par rapport au poids sec initial de la graine un *gain* de 12^{mgr},55.

2° Dosage de l'azote total contenu dans une plante :

Poids de substance prélevé.....	197 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	12 ^{cc} ,0
T = 15°.	
Pr. atm. = 773 ^{mm} .	

Le poids de l'azote total contenu dans une plante est donc :

$$P = 11^{\text{mgr}},81.$$

Ceci représente par rapport à l'azote initial de la graine un gain de $11,81 - 11,47 = 0^{\text{mgr}},34$.

La faiblesse de ce gain doit être attribuée à ce fait que les cotylédons présentaient, dans la graine, une légère altération que l'on a pu apercevoir dès le début de la germination et dont la conséquence était une diminution de la quantité d'azote initial.

L'essai du sol, au point de vue de la fermentation nitrique ou ammoniacale, a donné des résultats négatifs.

Helianthus annuus.

Le 4 mars 1897, 10 graines d'*Helianthus annuus* ont été plantées dans du sable calciné additionné d'une solution nutritive présentant la même composition que dans les expériences précédentes

L'essai a pris fin le 2 avril; 3 plantes ont été prélevées et soumises à l'analyse.

1° Le poids sec moyen d'une plante a été trouvé de 120 milligrammes.

Il est supérieur au poids sec moyen d'une graine de 56^{mgr},2, soit 88,08 p. 100.

2° Dosage de l'azote total contenu dans une plante :

Poids de substance prélevé.....	200 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	3 ^{cc} ,0
T = 18°.	
Pr. atm. = 754 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 3^{\text{mgr}},46.$$

Il est supérieur à celui de la graine de :

3,46 — 3,10 = 0^{mgr},36, soit 11,22 p. 100.

L'essai du sol après culture n'a décelé aucune fermentation.

Ipomæa purpurea.

Le 16 avril 1897, 10 graines d'*Ipomæa purpurea* ont été semées dans du sable additionné du même engrais que précédemment.

L'expérience a été arrêtée le 17 mai; 6 plantes ont été recueillies, séchées et analysées.

1° Le poids sec moyen d'une plante a été trouvé de 47^{mgr},5.

Ceci représente, par rapport au poids sec de la graine, un gain de 21^{mgr},5, soit 82,7 p. 100.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	169 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	6 ^{cc} ,0
T = 49°.	
Pr. atm. = 747 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 1^{\text{mgr}},91.$$

Il surpasse celui de la graine de 0^{mgr},65, soit 52,14 p. 100.

Résultats. — Les expériences qui précèdent concordent entre elles et confirment entièrement les résultats des expériences préliminaires.

Les plantes sont susceptibles de puiser leur azote dans la triméthylamine et de l'assimiler sans que ce corps ait eu besoin de subir dans le sol une transformation quelconque.

Diméthylamine.

La diméthylamine employée m'a été donnée par Delépine, bien privée des deux autres méthylamines à l'aide de son procédé à l'aldéhyde formique.

Je n'ai malheureusement eu entre les mains qu'une quan-

tilé assez minime de cette amine rigoureusement pure. Comme la majeure partie devait être réservée pour l'étude de la nutrition des Champignons, je n'ai pu faire qu'une expérience.

Cucurbita maxima.

Le 3 septembre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été plantées dans du sable calciné additionné de l'engrais ci-après :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de diméthylamine.....	0 ^{cc} ,50

L'expérience a pris fin le 14 octobre. Deux plantes ont été prélevées et analysées.

1° Le poids sec moyen d'une plante a été trouvé de 210 milligrammes.

Ceci représente par rapport au poids sec initial de la graine un gain de 73 milligrammes, soit de 53,5 p. 100.

2° *Dosage de l'azote total contenu dans une plante :*

Poids de substance prélevé.....	457 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	9 ^{cc} ,0
T = 11°,5.	
Pr. atm. = 742 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 14^{\text{mgr}},06.$$

Soit, par rapport à l'azote de la graine, un gain de 3^{mgr},76 ou 36,5 p. 100.

L'essai du sol après culture n'a décelé aucune fermentation.

Résultats. — De même que la triméthylamine, la diméthylamine est susceptible d'être assimilée par la plante et de servir à sa nutrition azotée sans avoir subi dans le sol de transformation préalable.

Monométhylamine.

Pour la même raison que dans le cas de la diméthylamine, je n'ai pu faire qu'une expérience.

Cucurbita maxima.

Le 3 septembre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été disposées dans du sable calciné additionné de l'engrais ci-après :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de monométhylamine....	6 ^{gr} ,50

L'expérience a été arrêtée le 14 octobre. Deux plantes ont été prélevées, séchées et analysées.

1° Le poids sec moyen d'une plante a été trouvé de 223 milligrammes.

Il dépasse le poids sec moyen de la graine de 86 milligrammes, soit de 62,7 p. 100 de ce poids.

2° *Dosage de l'azote total contenu dans une plante :*

Poids de substance prélevé.....	150 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	9 ^{cc} ,3
T = 14°.	
Pr. atm. = 743 ^{mm} .	

Le poids de l'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 16^{\text{mgr}},2.$$

Gain par rapport à l'azote initial de la graine : 5^{mgr},9, soit 57,2 p. 100.

Résultats. — La monométhylamine s'est conduite vis-à-vis des plantes comme les deux autres méthylamines : elle est directement assimilable en tant que source naturelle d'azote, et cela sans avoir eu à subir de transformation préalable dans le sol.

Diéthylamine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucurbita maxima*, *Zea Maïs*, *Cnicus benedictus*, *Ipomœa purpurea*.

Cucurbita maxima.

Le 16 octobre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été semées dans du sable calciné additionné de la solution nutritive suivante :

Solution mère sans azote.....	30 ^{cc}
Chlorhydrate de diéthylamine.....	0 ^{gr} ,50

L'expérience a pris fin le 19 novembre. Trois plantes ont été prélevées pour l'analyse.

1° Le poids sec moyen d'une plante après culture est de 202 milligrammes.

Il représente, par rapport au poids de la graine, un gain de 65 milligrammes, soit 50 p. 100 environ.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	287 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	19 ^{cc} ,4
T = 19°.	
Pr. atm. = 740 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 15^{\text{mgr}},3.$$

Ceci représente par rapport au poids de l'azote contenu dans la graine un *gain* de 5^{mgr},0, soit 50 p. 100 environ.

Zea Maïs.

Le 16 octobre 1897, 10 graines de Maïs ont été semées dans du sable additionné d'un engrais de même composition que le précédent. Le 27 novembre, 3 plantes ont été arrachées et analysées.

1° Le poids sec moyen d'une plante est de 205 milligrammes.

Il y a donc eu un gain de substance sèche de 70^{mgr},5, soit de 52,5 p. 100.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	245 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	5 ^{cc} ,0
T = 18°.	
Pr. atm. = 756 ^{mm} .	

Le poids d'azote total contenu dans une plante est donc :

$$P = 4^{\text{mgr}},83.$$

Ce poids est supérieur au poids de l'azote initial de la graine de 0^{mgr},30, soit de 6,7 p. 100.

Cnicus benedictus.

Le 4 mars 1897, 10 graines de *Cnicus benedictus* ont été semées dans du sable calciné additionné de la même solution qui a servi dans les expériences précédentes. Le 2 avril, il a été prélevé 5 plantes (avec les téguments de leurs graines).

Le poids moyen sec d'une plante a été trouvé de 46 milligrammes.

Il est par suite supérieur de $24^{\text{mgr}},2$ ou 109,10 p. 100 au poids initial de la graine.

Une rupture du tube à combustion a empêché l'évaluation de la quantité d'azote contenu dans la plante. Néanmoins, comme une semblable augmentation de poids sec ne va pas sans un accroissement notable de la quantité d'azote, j'ai cru devoir mentionner ce résultat.

Ipomæa purpurea.

Le 6 janvier 1897, 10 graines d'*Ipomæa purpurea* ont été plantées dans un sol de même composition que les précédents.

Le 23 février, 8 plantes ont été prélevées et analysées.

1° Le poids moyen sec d'une plante a été trouvé de $38^{\text{mgr}},5$, soit une augmentation de $12^{\text{mgr}},5$, ou 48,08 p. 100 sur le poids initial de la graine.

2° *Dosage de l'azote total contenu dans une plante :*

Poids de substance prélevé.....	182 ^{mgr}
Volumé d'azote recueilli.....	7 ^{cc} ,2
T = 10°.	
Pr. atm. = 734 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 1^{\text{mgr}},81.$$

Il y a donc un *gain* de $0^{\text{mgr}},55$, soit de 43,8 p. 100 par rapport à l'azote initial contenu dans une graine.

Résultats. — Tous ces résultats concordent entre eux pour montrer que la diéthylamine peut, de même que les

méthylamines, servir de source d'azote pour les plantes. Elle peut être assimilée directement, sans avoir eu à subir de fermentation préalable dans le sol.

Propylamine.

La propylamine qui a été utilisée pour ces recherches est la propylamine *normale*.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucumis prophetarum*, *Zea Maïs*, *Ipomœa purpurea*.

Zea Maïs.

Le 20 novembre 1896, 10 graines de Maïs ont été semées dans du sable préparé avec les précautions habituelles et qui a reçu le mélange nutritif suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydr. de propylamine normale.	0 ^{gr} ,50

Le 22 décembre il a été prélevé 6 plantes destinées à l'analyse.

1° Le poids sec moyen d'une plante a été trouvé, de 136 milligrammes, soit, par rapport au poids sec de la graine, un *gain* de 1^{mgr},5.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	250 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	7 ^{cc} ,2
T = 16°.	
Pr. atm. = 766 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 4^{\text{mgr}},63.$$

Ce poids n'est supérieur à celui de l'azote de la graine que de 0^{mgr},10.

Ce gain très faible doit être attribué aux mauvaises conditions de la végétation, retardée et contrariée par la température.

L'essai du sol après culture n'a, du reste, décelé aucune trace de fermentation nitrique ou ammoniacale.

Cucumis prophetarum.

Le 16 avril 1897, 10 graines de *Cucumis prophetarum* ont été semées dans un milieu présentant la même composition que le précédent.

L'expérience a été arrêtée le 13 mai, et il a été recueilli 5 plantes pour l'analyse.

1° Le poids moyen d'une plante est de 169 milligrammes. Il représente par rapport au poids de la graine un gain de 15^{mgr},8, soit 10 p. 100 environ.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	189 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	12 ^{cc} ,2
T = 16°.	
Pr. atm. = 752 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 12^{\text{mgr}},53.$$

Il y a donc un gain d'azote de 1^{mgr},6, soit 10 p. 100 environ.

Ipomæa purpurea.

Le 3 juillet 1897, 8 graines d'*Ipomæa purpurea* ont été semées dans du sable calciné additionné du même engrais que dans les essais précédents.

Le 18 août, 3 plantes ont été prélevées aux fins d'analyse avec les téguments de leurs graines.

1° Le poids sec moyen d'une plante est de 26^{mgr},66, soit un gain de 0^{mgr},66 sur le poids sec de la graine.

2° *Dosage de l'azote total contenu dans une plante :*

Poids de substance prélevé.....	80 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	3 ^{cc} ,4
T = 15°.	
Pr. atm. = 753 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 1^{\text{mgr}},325.$$

Soit un gain de 0^{mgr},067 ou 5,25 p. 100 par rapport à l'azote initial de la graine.

Résultats. — De même que les amines employées jusqu'ici, la propylamine est susceptible d'être utilisée comme aliment azoté par les plantes. Elle peut être assimilée directement, sans avoir subi dans le sol de fermentation nitrique ou ammoniacale.

Butylamine.

La butylamine utilisée pour ces essais est l'*isobutylamine*.
Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucumis prophetarum* et *Ipomœa purpurea*.

Cucumis prophetarum.

Le 6 janvier 1897, 10 graines de *Cucumis prophetarum* ont été semées dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote.	50 ^{cc}
Chlorhydrate d'isobutylamine.....	0 ^{gr} ,50

Le 9 février, 3 plantes ont été prélevées pour l'analyse :

1° Le poids sec moyen d'une plante a été trouvé de 157 milligrammes, soit un gain de 3^{mg},6 sur le poids sec initial de la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	187 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	12 ^{cc} ,2
T = 44°.	
Pr. atm. = 757 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 12^{\text{mgr}}, 22.$$

Soit, par rapport à l'azote initial de la graine, un gain de 0^{mgr},75 ou 6,54 p. 100.

L'essai ultérieur du sol n'a décelé aucune fermentation.

Ipomœa purpurea.

Le 4 mars 1897, 10 graines d'*Ipomœa purpurea* ont été

plantées dans du sable qui a reçu une solution nutritive analogue à la précédente.

Le 27 avril, 6 plantes ont été prélevées et analysées.

1° Le poids sec moyen d'une plante est de 56 milligrammes. Ce poids est supérieur de 30 milligrammes, ou 115,3 p. 100 à celui de la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	190 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	4 ^{cc} ,6
T = 18°.	
Pr. atm. = 756 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 1^{\text{mgr}},56.$$

Ce poids dépasse le poids d'azote initial de la graine de 0^{mgr},30, ou 24,4 p. 100.

Résultats. — L'isobutylamine rentre dans le cas des amines étudiées précédemment ; les plantes peuvent l'absorber et l'assimiler comme source d'azote, sans que ce corps ait été préalablement transformé dans le sol en nitrate ou en sel ammoniacal.

Amylamine.

Une partie de l'amylamine utilisée m'a été donnée par Delépine ; l'autre provenait du commerce. C'est l'isoamylamine qui a été étudiée.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucurbita maxima* et *Cnicus benedictus*.

Cucurbita maxima.

Le 24 septembre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été plantées dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote.....	50°
Chlorhydrate d'amylamine.....	0 ^{gr} ,50

Le 5 novembre, 2 plantes ont été prélevées et analysées.

1° Poids sec moyen d'une plante : 195 milligrammes.

Ceci représente un gain de 58 milligrammes par rapport au poids initial de la graine.

2° Dosage de l'azote total d'une plante :

Poids de substance prélevé.....	267 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.	24 ^{cc} ,0
T = 15°,5.	
Pr. atm. = 760 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 16^{\text{mgr}},87.$$

Soit un gain de 6^{mgr},57, ou 64 p. 100 environ, sur le poids d'azote contenu dans la graine.

L'essai du sol a été fait dans des conditions particulières.

Une petite portion de ce sol a été prélevée et analysée. Il ne s'y était produit aucune fermentation.

Le reste a reçu une nouvelle semence de *Cucurbita maxima*, sans addition d'aucune substance nutritive. La végétation de ces nouvelles plantes a été prolongée un peu plus d'un mois (5 novembre au 10 décembre).

Bien que l'analyse des plantes recueillies ait donné des résultats du même ordre que ceux de la première culture, je ne les mentionnerai pas en détail : en effet, malgré toutes les précautions prises, les diverses manipulations subies par le substratum ont pu modifier défavorablement les conditions d'asepsie exigées par ces recherches.

Le sol a été analysé de nouveau après la culture, et, cette fois encore, il n'a laissé découvrir aucun produit ayant pu être engendré par une fermentation nitrique ou ammoniacale.

Cette expérience montre donc d'une façon très nette l'absorption directe de l'amylamine.

Cnicus benedictus.

Le 16 avril 1897, 10 graines de *Cnicus benedictus* ont été

plantées dans un sol de même composition que celui de l'expérience précédente.

Le 17 mai, 8 plantes ont été recueillies et analysées.

1° Le poids sec moyen d'une plante a été trouvé de $35^{\text{mgr}},5$, soit, par rapport au poids initial de la graine, un gain de $13^{\text{mgr}},7$, ou 62,83 p. 100.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	214 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	40 ^{cc} ,2
T =	22°.
Pr. atm. =	757 ^{mm} .

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 1^{\text{mgr}},92.$$

Soit un gain de $0^{\text{mgr}},82$ ou 75,22 p. 100 par rapport à l'azote initial de la graine.

Résultats. — Les expériences qui précèdent concordent entre elles pour montrer que les sels d'amylamine sont directement assimilables par la plante pour servir à sa nutrition azotée. Ils n'ont pas besoin, pour être assimilés, de subir une transformation préalable dans le sol.

Allylamine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucumis prophetarum*, *Helianthus annuus* (3 expériences), *Zea Maïs*, *Cucurbita maxima*, *Cnicus benedictus*.

Cucumis prophetarum.

Le 6 janvier 1897, 10 graines de *Cucumis prophetarum* ont été semées dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote.....	50°°
Chlorhydrate d'allylamine.....	0 ^{gr} ,50

Le 1^{er} février, remarquant que les plantes dépérissaient j'ai recueilli celles, au nombre de 3, qui étaient encore parfaitement intactes. Elles ont été séchées et analysées.

1° Le poids moyen d'une plante sèche a été trouvé de 178^{mgr},33. Ce poids excède celui de la graine de 41^{mgr},33.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	243 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	41 ^{cc} ,5
T = 16°.	
Pr. atm. = 763 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 9^{\text{mgr}},87.$$

Ce poids est *inférieur* à celui de l'azote de la graine de :

$$11,47 - 9,87 = 1^{\text{mgr}},60.$$

Soit 13,88 p. 100.

L'essai ultérieur du sol n'a décelé aucune fermentation, soit nitrique, soit ammoniacale.

Helianthus annuus (première expérience).

Le 3 juillet 1897, 8 graines d'*Helianthus annuus* ont été semées dans du sable additionné du mélange suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate d'allylamine.....	4 ^{gr}

L'expérience a pris fin le 18 août; 2 plantes parfaitement saines ont été prélevées et analysées. (Les téguments des graines ont été joints aux plantes.)

1° Le poids sec moyen d'une plante est de 65 milligrammes, soit, par rapport à la graine, un gain de substance sèche de 1^{mgr},2.

2° *Dosage de l'azote total contenu dans une plante :*

Poids de substance prélevé.....	130 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	4 ^{cc} ,4
T = 18°.	
Pr. atm. = 758 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans la plante est par suite :

$$P = 2^{\text{mgr}},55.$$

Soit une perte, par rapport à l'azote initial de la graine, de $0^{\text{mgr}},55$ ou 17,87 p. 100.

Zea Maïs.

Le 23 août 1897, 10 graines de Maïs ont été plantées dans un substratum de même composition que celui utilisé dans l'expérience précédente. Le 4 octobre, 6 plantes ont été recueillies et analysées.

1° Le poids moyen sec d'une plante a été trouvé de $129^{\text{mgr}},3$, soit une perte, par rapport au poids sec de la graine, de $4^{\text{mgr}},2$.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	206 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	3 ^{cc} ,4
T = 15°.	
Pr. atm. = 772 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 2^{\text{mg}},32.$$

Soit une perte, par rapport à l'azote initial de la graine, de $2^{\text{mgr}},21$ ou 48,78 p. 100.

L'essai du sol n'y a décelé aucune fermentation.

Autres plantes.

Il m'a été impossible, quelque précautions qui aient été prises, de faire végéter d'autres plantes dans le sol additionné de chlorhydrate d'allylamine. La germination s'effectuait toujours normalement, puis, brusquement, les plantes dépérissaient avec une grande rapidité, et toutes mouraient en très peu de jours.

L'examen du sol après culture a cependant montré que, dans aucun cas, il ne s'y était produit de fermentation nitrique ou ammoniacale.

Résultats. — L'allylamine, au contraire de toutes les amines étudiées jusqu'ici, se montre donc impropre à la nutrition azotée des végétaux phanérogames, dans le cas, bien

entendu, où elle n'a subi dans le sol aucune fermentation nitrique ou ammoniacale.

Bien plus, les plantes qui y ont végété ont accusé la perte d'une partie de leur azote initial. Ce fait est très important; on y reviendra plus loin.

Benzylamine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Zea Maïs*, *Cucumis prophetarum*, *Ipomœa purpurea*.

Zea Maïs.

Le 26 novembre 1896, 10 graines de Maïs ont été plantées dans du sable additionné de l'engrais ci-après :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de benzylamine.....	0 ^{gr} ,50

L'opération a été arrêtée le 31 décembre; 3 plantes parfaitement saines ont été prélevées et analysées.

1° Le poids moyen sec d'une plante a été trouvé de 104 milligrammes, en perte de 30^{mgr},5 ou 22,67 p. 100 sur le poids sec initial de la graine.

2° *Dosage de l'azote total* :

Poids de substance prélevé.....	200 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	6 ^{cc} ,0
T = 15°.	
Pr. atm. = 758 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans la plante est donc de :

$$P = 3^{\text{mgr}},65.$$

Ceci représente, par rapport au poids d'azote contenu dans la graine, une perte de 0^{mgr},88 ou 19,35 p. 100.

L'essai du sol a montré qu'il n'avait été le siège d'aucune fermentation.

Cucumis prophetarum.

Le 4 mars 1897, 10 graines de *Cucumis prophetarum* ont

été plantées dans du sable additionné d'un engrais analogue à celui employé dans l'expérience précédente.

Le 3 avril, 3 plantes parfaitement saines ont été prélevées (avec les téguments de leurs graines), et elles ont été analysées.

1° Le poids sec d'une plante est de 240 milligrammes. Il est supérieur de 86^{mgr},8 ou 56,65 p. 100 à celui de la graine.

2° *Dosage de l'azote total contenu dans une plante :*

Poids de substance prélevé.....	224 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	9 ^{cc} ,0
T = 20°.	
Pr. atm. = 760 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 44^{\text{mgr}},07.$$

Soit une perte de 0^{mgr},40 ou 3,50 p. 100 par rapport à l'azote initial de la graine.

Ipomæa purpurea.

Le 3 juillet 1897, 8 graines d'*Ipomæa purpurea* ont été semées dans du sable additionné de la solution nutritive ci-après :

Solution mère sans azote.....	30 ^{cc}
Chlorhydrate de benzylamine.....	4 ^{cc}

Le 18 août, 3 plantes parfaitement saines ont été prélevées avec les téguments des graines correspondants.

1° Le poids moyen sec d'une plante est de 36^{mgr},66, soit un gain de 10^{mgr},66, par rapport à l'azote initial de la graine.

2° *Dosage de l'azote total de la plante :*

Poids de substance prélevé.....	440 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	3 ^{cc} ,0
T = 15°.	
Pr. atm. = 754 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans la plante est par suite :

$$P = 4^{\text{mgr}},17.$$

Il y a donc eu une perte d'azote de 0^{me},09 ou 6,50 p. 100 par rapport au poids de cette substance renfermé dans la graine.

Résultats. — La benzylamine ne peut pas servir non plus à la nutrition des Phanérogames, si toutefois elle ne subit pas dans le sol de fermentation préalable.

Les végétaux y éprouvent en outre une perte d'azote, comme dans le cas de l'allylamine.

B. — AMINES PHÉNOLIQUES.

Diphénylamine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : il a été effectué plusieurs expériences portant sur les deux plantes suivantes : *Cucurbita maxima* et *Zea Maïs*.

Cucurbita maxima.

Expérience I. — Le 10 octobre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été plantées dans du sable calciné additionné du mélange suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de diphénylamine.....	0 ^{gr} ,50

La germination des graines s'est effectuée avec rapidité, mais les racines, dès leur apparition hors des léguments, subirent, au contact du sol, une véritable brûlure qui amena bientôt la mort des jeunes plantes.

Expérience II. — Le même essai de culture a été renouvelé en diminuant la quantité de chlorhydrate de diphénylamine, qui fut réduite à 0^{gr},20.

Cette expérience a été effectuée le 17 octobre 1896.

Comme dans l'expérience précédente, les jeunes plantes furent brûlées dès leur contact avec le sol.

Expérience III. — Le 24 octobre 1896, la dose de chlorhy-

drate de diphénylamine fut encore réduite, et chaque culture ne reçut que 0^{gr},10 de ce sel.

Même échec que dans les cas précédents.

Zea Maïs.

Le 24 novembre 1896, un certain nombre de graines de Maïs ont été plantées dans un substratum analogue aux précédents et renfermant seulement 0^{gr},10 de chlorhydrate de diphénylamine.

La germination s'est effectuée avec difficulté, et la végétation des jeunes plantes prit, dès le début, une apparence souffreteuse.

Le 22 décembre, lors de l'arrachage, les plantes avaient leurs racines presque complètement brûlées.

Résultats. — Même à faible dose, la diphénylamine se comporte donc, vis-à-vis des plantes phanérogames, comme un toxique violent, désorganisant leurs tissus.

Aniline.

L'aniline qui a servi à exécuter ces essais a été employée sous forme de sulfate. Bien que ce dernier corps ne représente pas un produit de composition constante et nettement définie, il a été employé de préférence à l'aniline pure dont l'action sur les plantes aurait pu être trop énergique.

Plusieurs expériences ont été faites et ont porté sur les deux plantes : *Cucurbita maxima* et *Zea Maïs*.

Cucurbita maxima.

Expérience I. — Le 10 octobre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été plantées dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Sulfate d'aniline.....	0 ^{gr} ,50

Dès leur contact avec le substratum, à leur sortie des

téguments, les radicules des plantes ont été profondément brûlées.

Expérience II. — Le 17 octobre, un nouvel essai est tenté en réduisant la dose de sulfate d'aniline à 0^{gr},25.

Même échec que dans le cas précédent.

Expérience III. — Le 24 octobre, la dose de sulfate d'aniline est amenée à 0^{gr},20 ; 10 graines de *Cucurbita* sont disposées dans le sol ainsi préparé.

Le développement des jeunes plantes s'est effectué d'une manière très médiocre, et, lors de l'arrachage, elles avaient leurs racines presque totalement détruites.

Zea Maïs.

Expérience I. — Dans un sol artificiel composé suivant les mêmes formules qui ont servi pour les graines de *Cucurbita*, et renfermant 0^{gr},50 de sulfate d'aniline, j'ai semé, le 10 octobre 1896, 10 graines de Maïs.

Dès la germination, les radicules furent brûlées au contact du sol.

Expérience II. — Dans cette nouvelle expérience, faite le 24 novembre 1896, la dose de sulfate d'aniline a été réduite à 0^{gr},10.

Le 22 décembre, les plantes ont été arrachées. Leurs racines étaient encore brûlées, moins profondément, il est vrai, que dans les cas précédents, mais d'une manière suffisante pour entraver sérieusement la nutrition de la plante.

Résultats. — Les sels d'aniline sont donc toxiques vis-à-vis de la plante de la même manière que ceux de diphénylamine.

Il y a cependant lieu de noter que, à poids égal de produit, l'action du sel d'aniline a été beaucoup moins violente sur les racines des plantes que ne l'avait été celle du sel de diphénylamine.

Ce fait semblerait attribuer au radical phényl lui-même le pouvoir toxique des deux amines qu'il engendre.

Naphtylamine.

Sel employé : Chlorhydrate de naphtylamine α .

Plantes : *Zea Maïs* et *Cucurbita maxima*.

Zea Maïs.

Le 16 octobre 1896, 10 graines de Maïs ont été plantées dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de naphtylamine α	0 ^{gr} ,50

La germination s'est effectuée rapidement, mais, dès leur apparition, les radicules furent brûlées au contact du sol chargé de naphtylamine, ainsi que toutes les parties des plantes qui vinrent à toucher le sable de culture.

Cucurbita maxima.

Expérience I. — Le 10 octobre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été déposées dans un sol de même composition que celui de l'expérience précédente. Aussitôt germées, et dès leur contact avec le sol, les radicules des jeunes plantes se recroquevillèrent, et, en très peu de jours (de trois à cinq suivant les plantes), leur destruction s'accrut et s'étendit jusqu'aux cotylédons.

Expérience II. — La dose de chlorhydrate de naphtylamine est réduite de moitié, c'est-à-dire devient 0^{gr},25.

Même insuccès; les plantes sont encore détruites par l'action du sel de naphtylamine.

Expérience III. — La quantité de chlorhydrate de naphtylamine est abaissée à 0^{gr},20.

Aussitôt après la germination, les plantes manifestèrent une tendance sensible au développement, mais cet état ne dura pas; elles dépérèrent bientôt avec rapidité, et, lors de l'arrachage, on a pu constater une destruction presque complète des racines.

Expérience IV. — Le sol ne reçoit que 0^{gr},10 seulement

de sel de naphtylamine, et il est ensemencé avec quelques graines de *Cucurbita*.

La germination sembla s'effectuer assez bien, mais le développement resta stationnaire à ce stade, et, au bout d'un mois, une notable destruction des racines fut encore observée sur les échantillons prélevés.

Résultats. — Même à faible dose, la naphtylamine est puissamment toxique vis-à-vis des Phanérogames, dont elle détruit les tissus comme l'ont fait la diphénylamine et l'aniline.

C. — AMINES A FONCTIONS MIXTES (*Amines-acides.*)

Glycolamine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cnicus benedictus* et *Cucumis Melo*.

Cnicus benedictus.

Le 30 octobre 1897, 10 graines de *Cnicus benedictus* ont été disposées dans du sable calciné additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de glycolamine.....	0 ^{gr} ,50

L'expérience a été arrêtée le 28 décembre. La germination des graines s'était effectuée avec difficulté, mais néanmoins les plantes ne présentaient aucune trace d'altération extérieure.

10 plantes ont été recueillies.

1° Le poids moyen d'une plante était de 20^{mgr},9, soit 0^{mgr},9 de moins que pour la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	209 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	6 ^{cc} ,7
T = 10°.	
Pr. atm. = 754.	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 0^{\text{mgr}},80.$$

Soit une perte, par rapport à l'azote total renfermé dans la graine, de $0^{\text{mgr}},30$ ou 26,96 p. 100.

Cucumis Melo.

Le 30 octobre 1897, 10 graines de Melon ont été plantées dans un sol analogue au précédent.

Le 16 décembre, j'ai recueilli 5 plantes auxquelles furent joints les téguments de leurs graines.

1° Le poids moyen d'une plante était de 46 milligrammes, soit une perte de 1 milligramme sur le poids de substance sèche de la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	125 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	4 ^{cc} ,4
T = 41°.	
Pr. atm. = 759 ^{mm} .	

Le poids d'azote renfermé dans une plante est alors :

$$P = 1^{\text{mgr}},934.$$

Ce poids est inférieur de $1^{\text{mgr}},093$, soit 36,10 p. 100 au poids initial de l'azote contenu dans une graine.

Résultats. — La glycolamine est donc impropre à la nutrition azotée des plantes phanérogames. De plus, les plantes y éprouvent une perte d'azote comparable à celle observée avec les amines alcooliques de formule moléculaire élevée.

Bétaïne (triméthylglycolamine ou oxynévrine).

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Zea Maïs* et *Ipomæa purpurea*.

Zea Maïs.

Le 23 août 1897, 10 graines de Maïs ont été plantées

dans un sol artificiel additionné de la solution nutritive suivante :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de bétaine.....	0 ^{gr} ,50

Le 8 octobre, 2 plantes ont été prélevées pour l'analyse.

1° Le poids moyen sec d'une plante était de 140^{mgr},5. Ce poids surpasse de 6 milligrammes le poids de la graine initiale, mais il y a lieu de remarquer qu'il a été impossible de séparer complètement les particules siliceuses adhérentes aux racines, sous peine de les briser. Il faut, par suite, en tenir compte dans l'interprétation des résultats.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	190 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	3 ^{cc} ,4
T = 11°.	
Pr. atm. = 763 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 2^{\text{mgr}},75.$$

Ceci représente une perte d'azote de 1^{mgr},78 ou 39,29 p. 100 par rapport au poids de cet élément contenu dans la graine.

Ipomœa purpurea.

Le 23 août 1897, 10 graines d'*Ipomœa purpurea* ont été plantées dans un sol artificiel additionné de 0^{gr},50 de chlorhydrate de bétaine.

Le 8 octobre, 4 plantes ont été prélevées avec les téguments de leurs graines.

1° Le poids moyen sec d'une plante a été trouvé de 24^{mgr},5, soit une perte de 1^{mgr},5 par rapport au poids initial de la graine.

2° *Dosage de l'azote total contenu dans une plante :*

Poids de substance prélevé.....	98 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	4 ^{cc} ,0
T = 15°.	
Pr. atm. = 771 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc de :

$$P = 1^{\text{mgr}}, 19.$$

La perte d'azote subie par la plante n'est ici que de $0^{\text{mgr}}, 05$; elle est donc insignifiante.

Résultats. — La bétaine est également impropre à la nutrition azotée des Phanérogames.

Leucine.

La leucine a été employée à l'état pur. Il n'a pu être fait qu'une expérience, avec des graines d'*Ipomœa purpurea*.

Le 30 octobre 1897, 10 de ces graines ont été plantées dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Leucine.....	0 ^{gr} , 50

Le 16 décembre, 3 plantes ont été recueillies et analysées.

1° Le poids moyen d'une plante sèche était de 18 milligrammes, soit 8 milligrammes de moins que dans la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	54 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	2 ^{cc} , 9
T = 10°.	
Pr. atm. = 755 ^{mm} .	

Le poids d'azote total contenu dans une plante est donc :

$$P = 1^{\text{mgr}}, 156.$$

Soit une perte de $0^{\text{mgr}}, 102$ ou 8,10 p. 100 par rapport à l'azote initial de la graine.

Résultats. — La leucine est donc inassimilable comme aliment azoté pour les Phanérogames, et ces plantes subissent, lors de leur végétation en sa présence, une perte d'azote comparable à celle que l'on a observée dans un certain nombre de cas précédents.

Tyrosine.

Une seule expérience a pu être exécutée à l'aide de semences de *Cucumis Melo*.

Le 30 octobre 1897, 10 graines de Melon ont été plantées dans du sable additionné du mélange suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Tyrosine.....	0 ^{gr} ,50

Le 10 décembre, 3 plantes ont été recueillies avec les téguments de leurs graines.

1° Le poids moyen sec d'une plante était de 43^{mgr},33, soit une perte de substance sèche de 3^{mgr},67.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	130 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	6 ^{cc} ,5
T = 12°.	
Pr. atm. = 740 ^{mm} .	

Le poids d'azote renfermé dans une plante est alors :

$$P = 2^{\text{mgr}},515.$$

Il y a donc une perte, par rapport à l'azote initial de la graine, de 0^{mgr},512 ou 16,91 p. 100.

Résultats. — La tyrosine est donc, elle aussi, incapable de servir de source d'azote assimilable pour les Phanérogames.

D. — BASES PYRIDIQUES.

Pyridine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucurbita maxima* et *Zea Maïs*.

Cucurbita maxima.

Le 7 janvier 1897, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été disposées dans du sable additionné de la solution ci-après :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de pyridine.....	0 ^{gr} ,50

La germination s'est effectuée d'une manière peu satisfaisante ; 3 graines seulement ont germé. Les jeunes plantes

qui en sont résultées se sont mal développées, et, dès le début de février, elles étaient en plein dépérissement. Des torsions de leurs axes hypocotylés avaient amené de profondes cassures transversales de ces organes; les cotylédons ne s'étaient pas ou s'étaient à peine épanouis; la racine principale, grêle et courte, ne portait que quelques maigres radicelles crispées à leur extrémité. Au point de naissance de la racine, un éclatement latéral de l'axe hypocotylé a formé de chaque côté une lame qui s'applique en s'avancant sur le sol. Enfin, toutes les plantes présentent à leur surface de nombreuses taches couleur de rouille.

Zea Maïs.

Le 7 janvier 1897, 10 graines de Maïs ont été semées dans un sol de même composition que le précédent.

L'expérience a échoué comme avec les *Cucurbita*.

Résultats. — La pyridine est impropre à la nutrition des Phanérogames pour lesquels elle ne peut, seule, constituer une source d'azote assimilable.

II. — SELS D'AMMONIUMS COMPOSÉS.

Tétraméthylammonium.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucumis prophetarum*, *Cnicus benedictus*, *Zea Maïs*.

Cucumis prophetarum.

Le 30 octobre 1897, 10 graines de *Cucumis prophetarum* ont été plantées dans du sable additionné de l'engrais ci-après :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de tétraméthylammonium.....	0 ^{gr} ,50

Le 16 décembre, 4 plantes ont été recueillies avec les téguments des graines correspondantes :

1° Le poids moyen d'une plante a été trouvé de 150 milligrammes, soit, par rapport à la graine, une perte de substance sèche de 3^{mgr},2.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	169 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	9 ^{cc} ,1
T = 14°.	
Pr. atm. = 769 ^{mm} .	

La quantité d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 9^{\text{mgr}},54.$$

Soit une perte de 1^{mgr},83 ou 15,95 p. 100 du poids initial de l'azote contenu dans la graine.

Cnicus benedictus.

Le 30 octobre 1897, 10 graines de *Cnicus benedictus* ont été disposées dans un sol présentant la même composition que dans l'expérience précédente. L'essai a pris fin le 28 décembre.

La germination s'est effectuée avec de grandes difficultés : 3 ou 4 graines seulement ont laissé poindre leurs racines hors des téguments. Les cotylédons ont fait éclater ces téguments, mais sans s'épanouir complètement. En outre, l'allongement des racines a été presque nul, et c'est à peine si le contact de ces organes avec le sol a eu lieu.

L'analyse de ces plantes a néanmoins été faite.

1° Le poids moyen d'une plante sèche a été trouvé de 24^{mgr},22, soit un gain de substance sèche de 2^{mgr},42.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	218 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	8 ^{cc} ,4
T = 12°.	
Pr. atm. = 752 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans la plante est par suite :

$$P = 1^{\text{mgr}},10.$$

Ce poids est égal à celui renfermé dans la graine initiale

(1^{mg},10). Le défaut dans la germination des graines, leur avait donc laissé une teneur en azote égale à celle du début de l'expérience.

Nous aurons, par la suite, l'occasion de constater encore deux fois un semblable phénomène. La discussion de ce fait sera donnée un peu plus loin.

Zea Maïs.

Le 30 octobre 1897, 8 graines de Maïs ont été disposées dans un sol de composition analogue aux deux précédents. La germination s'est effectuée avec difficulté, et les plantes n'ont pas tardé à dépérir.

Résultats. — Les sels de tétraméthylammonium ne peuvent pas servir de source d'azote directement assimilable par les végétaux phanérogames.

Tétraéthylammonium.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucumis prophetarum*, *Cnicus benedictus*, *Zea Maïs*.

Cucumis prophetarum.

Le 30 octobre 1897, 10 graines de *Cucumis prophetarum* ont été disposées dans du sable calciné additionné du mélange suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydr. de tétraéthylammonium...	0 ^{gr} ,50

Le 17 décembre, 4 plantes ont été recueillies avec les téguments des graines correspondantes.

1° Le poids sec moyen d'une graine a été trouvé de 144^{mg},25, soit une perte de 8^{mg},95 par rapport au poids sec initial de la graine.

2° *Dosage de l'azote total contenu dans une plante :*

Poids de substance prélevé.....	168 ^{mg}
Volume d'azote recueilli.....	10 ^{cc} ,3
T = 10°.	
Pr. atm. = 774 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 10^{\text{mgr}}, 80.$$

Il y a donc eu une perte d'azote de $0^{\text{mgr}}, 67$ ou $5,84$ p. 100 par rapport à l'azote contenu dans la graine au début de l'expérience.

. *Autres plantes.*

Deux autres essais, effectués dans des conditions identiques avec des graines de *Cnicus benedictus* et de *Zea Maïs*, ont abouti à un échec. Ou la germination ne s'est pas produite, ou les plantes n'ont pas tardé à dépérir.

Résultats. — De même que les sels de tétraméthylammonium, ceux de tétraéthylammonium sont incapables de servir de source d'azote directement assimilable pour les Phanérogames.

III. — ALCALOÏDES.

Caféine.

Les sels de caféine étant dissociables par l'eau, j'ai essayé d'abord d'employer de la caféine non saturée par un acide ; en présence des mauvais résultats obtenus, d'autres expériences ont été instituées avec du chlorhydrate de cette base.

Plantes employées : *Cucurbita maxima*, *Zea Maïs*, *Helianthus annuus*.

1° CAFÉINE BASE.

Cucurbita maxima.

Expérience I. — Le 10 octobre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été plantées dans du sable additionné du mélange suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Caféine (base).....	0 ^{gr} , 50

La germination s'est effectuée avec rapidité, mais les plantes, dès leur apparition hors des téguments, donnèrent des signes de dépérissement et moururent en peu de temps. Lors de l'arrachage, une importante destruction des racines a été observée.

Expérience II. — La quantité de caféine introduite dans le sol a été réduite à 0^{gr},25. Même échec que dans le cas précédent.

Zea Maïs.

Le 16 octobre 1896, 10 graines de Maïs ont été semées dans un sol analogue aux précédents, et renfermant 0^{gr},50 de caféine par pot.

Le développement des plantes s'est effectué dans de mauvaises conditions, et, rapidement, elles moururent toutes. Elles s'étaient très peu développées et avaient poussé des racines grêles qui ont été assez profondément brûlées en leurs points de contact avec le sol.

2° CHLORHYDRATE DE CAFÉINE.

Zea Maïs.

Le 6 janvier 1897, 10 graines de Maïs ont été semées dans du sable additionné du mélange suivant :

Solution mère sans azote	50 ^{cc}
Chlorhydrate de caféine.....	0 ^{gr} ,50

La germination s'est effectuée normalement, mais, au bout de peu de temps, les jeunes plantes donnèrent des signes de dépérissement.

Le 1^{er} février, il a été prélevé, aux fins d'analyse, 4 plantes ne présentant aucun signe extérieur d'altération.

1° Le poids moyen sec d'une plante était de 94^{mg},25. Ce poids est inférieur de 40^{mg},25 ou 30 p. 100 au poids sec initial de la graine.

2° Dosage de l'azote total contenu dans une plante :

Poids de substance prélevé.....	264 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	6 ^{cc} ,1
T = 43°	
Pr. atm. = 760 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est alors :

$$P = 2^{\text{mgr}}, 58.$$

Ceci représente une perte de 1^{mgr},95 ou 43,04 p. 100 du poids de l'azote initial d'une graine.

Helianthus annuus.

Le 3 juillet 1897, 10 graines d'*Helianthus annuus* ont été disposées dans du sable additionné de l'engrais employé pour l'expérience précédente.

Le 18 août, 2 plantes parfaitement saines ont été prélevées avec les téguments des graines correspondantes.

1° Le poids moyen sec d'une graine a été trouvé de 60 milligrammes, soit une perte de poids de 3^{mgr},8 par rapport à la graine.

2° Dosage de l'azote total renfermé dans une plante :

Poids de substance prélevé.....	120 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	3 ^{cc} ,7
T = 16°.	
Pr. atm. = 757 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 2^{\text{mgr}}, 16.$$

Soit une perte de 0^{mgr},94 ou 30,32 p. 100 par rapport à l'azote de la graine.

Cucurbita maxima.

Le 23 janvier 1898, 8 graines de *Cucurbita maxima* ont été plantées dans un sol de même composition que celui des expériences précédentes.

4 graines seulement ont germé, et, le 24 février, les plantes produites ont été arrachées.

1° Le poids moyen d'une plante était de 128^{mgr},82, soit une perte de 8^{mgr},82 sur le poids de substance sèche de la graine.

2° *Dosage de l'azote total contenu dans la plante :*

Poids de substance prélevé.....	190 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli	13 ^{cc} ,0
T = 11°.	
Pr. atm. = 752 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans la plante est alors :

$$P = 8^{\text{mgr}},82$$

Soit une perte de 1^{mgr},48 ou 14,36 p. 100 par rapport à l'azote de la graine.

Résultats. — La caféine basique se montre toxique vis-à-vis des plantes phanérogames dont elle détruit les tissus.

Quant au chlorhydrate de caféine, il se conduit comme un corps non assimilable, et, en sa présence, les plantes ont éprouvé une perte d'azote analogue à celle déjà obtenue avec certaines amines.

Quinine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucurbita maxima*, *Zea Maïs*, *Helianthus annuus*.

Cucurbita maxima.

Le 10 octobre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été plantées dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de quinine.....	0 ^{gr} ,50

Peu de temps après leur germination, les plantes donnèrent des signes de dépérissement, et, en quelques jours, elles moururent toutes.

Zea Maïs.

Le 26 novembre 1896, 10 graines de Maïs ont été dispo-

sées dans un substratum de même composition que celui de l'expérience précédente.

La végétation n'a pas été très brillante; cependant les plantes se sont maintenues pendant assez longtemps sans trop dépérir.

Le 31 décembre, 4 plantes ne présentant aucun signe extérieur d'altération ont été recueillies et analysées.

1° Le poids sec moyen d'une plante a été trouvé de 100 milligrammes, soit une perte de poids sec de $34^{\text{mgr}},5$ par rapport à la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé..... 454^{mgr}

Volume d'azote recueilli..... $4^{\text{cc}},1$

$T = 13^{\circ}.$

$\text{Pr. atm.} = 759^{\text{mm}}.$

Le poids d'azote renfermé dans une plante est donc :

$$P = 3^{\text{mgr}},18.$$

Ceci représente par rapport à l'azote de la graine une perte de $1^{\text{mgr}},35$ ou $29,80$ p. 100.

Helianthus annuus.

Le 3 juillet 1897, 8 grains d'*Helianthus annuus* ont été plantées dans du sable additionné du même engrais que ci-dessus.

Le 18 août, 2 plantes ne présentant aucun signe extérieur d'altération ont été prélevées et analysées; les téguments des graines correspondantes avaient été joints à ces plantes.

1° Le poids sec moyen d'une plante est de $55^{\text{mgr}},5$, soit une perte de $8^{\text{mgr}},3$ ou $13,10$ p. 100 par rapport au poids sec de la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé..... 411^{mgr}

Volume d'azote recueilli..... $4^{\text{cc}},4$

$T = 18^{\circ}.$

$\text{Pr. atm.} = 756^{\text{mm}}.$

Le poids d'azote renfermé dans une plante est donc :

$$P = 2^{\text{mgr}},54$$

Soit, par rapport à l'azote de la graine, une perte de poids de 0^{mgr},56 ou 18,06 p. 100.

Résultats. — De même que la caféine, la quinine s'est conduite comme un composé dont l'azote n'est pas directement assimilable par les plantes. Dans les conditions ordinaires, elle ne peut pas servir à la nutrition azotée des Phanérogames.

Cocaïne.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucurbita maxima*, *Zea Maïs*, *Helianthus annuus*.

Cucurbita maxima.

Le 11 octobre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont été semées dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de cocaïne.....	0 ^{gr} ,50

La germination s'est effectuée dans des conditions satisfaisantes, mais, au bout de quelques jours, les plantes donnèrent des signes de dépérissement, et elles ne tardèrent pas à mourir.

Zea Maïs.

Le 27 novembre 1896, la même expérience a été répétée sur des graines de Maïs qui ont été disposées dans un substratum de même composition.

Les plantes semblant souffrir, j'ai recueilli, le 14 décembre, 6 d'entre elles qui ne présentaient aucun signe extérieur d'altération, et je les ai analysées.

1° Le poids moyen sec d'une plante a été trouvé de 131 milligrammes, soit une perte de 3^{mgr},5 par rapport à la graine.

2° Dosage de l'azote total d'une plante :

Poids de substance prélevé.....	250 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	6 ^{cc} ,2
T = 11°.	
Pr. atm. = 764 ^{mm} .	

Le poids d'azote renfermé dans une plante est donc :

$$P = 3^{\text{mgr}},91.$$

Ce qui représente, par rapport à l'azote initial de la graine, une perte de $0^{\text{mgr}},62$ ou $13,68$ p. 100.

Helianthus annuus.

Expérience I. — Le 3 juillet 1897, 8 graines d'*Helianthus annuus* ont été semées dans un sol analogue à celui des expériences précédentes. Après une germination normale, les plantes ne tardèrent pas à dépérir, et l'analyse en a été impossible.

Expérience II. — L'essai a été recommencé le 23 août. Le 8 octobre, 5 plantes ont été recueillies avec les téguments des graines correspondantes.

1° Le poids moyen sec d'une plante est de $62^{\text{mgr}},5$, soit une perte de substance sèche de $1^{\text{mgr}},3$ par rapport à la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	190 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	6 ^{cc} ,6
T = 12°.	
Pr. atm. = 768 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est alors :

$$P = 2^{\text{mgr}},615.$$

Soit une perte de $0^{\text{mgr}},585$ ou $18,87$ p. 100, par rapport à l'azote total de la graine.

Résultats. — La cocaïne se conduit comme un corps impropre, dans les conditions ordinaires, à servir aux Phanérogames d'aliment azoté directement assimilable.

Atropine.

Sel employé : Sulfate neutre.

Plantes : *Cucurbita maxima*, *Zea Mäis*, *Atropa Belladonna*.

Cucurbita maxima.

Cet essai a porté sur 10 graines qui ont été plantées le 11 octobre 1896 dans du sable additionné de la solution suivante :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Sulfate neutre d'atropine.....	0 ^{gr} ,50

De même que dans un certain nombre d'expériences effectuées avec d'autres alcaloïdes, les plantes, après une germination normale, n'ont pas tardé à périr.

Zea Maïs.

Le 26 novembre 1896, 10 graines de Maïs ont été plantées dans un sol composé comme le précédent.

Le 24 décembre, il a été prélevé 6 plantes ne présentant pas trace d'altération extérieure.

1° Poids sec moyen d'une plante : 121 milligrammes, soit une perte de substance sèche de 13^{mgr},15 par rapport à la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	240 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	5 ^{cc} ,8
T = 17°.	
Pr. atm. = 762 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 3^{\text{mgr}},42.$$

Soit une perte de 1^{mgr},11 ou 24,54 p. 100, par rapport au poids initial de l'azote d'une graine.

Atropa Belladonna.

Le 3 juillet 1897, un certain nombre de graines de Belladone ont été semées dans du sable additionné du même engrais qui avait été employé dans les expériences précédentes.

L'essai n'a pris fin que le 30 octobre, c'est-à-dire près de quatre mois après la plantation.

Les graines ont germé dans des conditions normales, mais le développement s'est arrêté après l'épanouissement des cotylédons. Dans quelques plantes, cependant, il s'est montré deux feuilles post-cotylédonaires maigres, et l'état de la végétation est demeuré stationnaire. Cet état a pu être prolongé pendant plus de trois mois sans que les plantes aient manifesté le moindre signe extérieur d'altération des tissus.

L'analyse des plantes au point de vue de leur teneur en azote n'a pu être faite à cause de la quantité trop faible de substance sèche recueillie. Néanmoins, l'arrêt de la végétation est par lui-même assez concluant en faveur de la non-assimilabilité directe de l'atropine.

Résultats. — Les expériences qui précèdent montrent que l'atropine, de même que les alcaloïdes précédemment étudiés, ne peut servir directement de source d'azote pour les végétaux.

Ces résultats sont en contradiction absolue avec l'opinion exprimée par Réveil (1), qui déclare, d'après ses expériences, que « l'atropine est un véritable engrais pour certaines plantes ». Ils viennent en confirmation des faits énoncés par Maracci (2), qui constate que l'atropine est plutôt nuisible, et par de Varigny (3), qui trouve qu'elle n'est pas en général favorable à la végétation, et qu'elle ne joue pas, dans le développement de la jeune plante, le rôle d'engrais qu'on lui accordait jusqu'alors.

Morphine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plantes : *Cucurbita maxima*, *Zea Maïs*, *Helianthus annuus*.

. *Cucurbita maxima*.

Le 11 octobre 1896, 10 graines de *Cucurbita maxima* ont

(1) Réveil, *Recherches de physiologie végétale*. — Action des poisons sur les plantes. Lyon, 1865, p. 102-106.

(2) Maracci, *L'azione degli Alcaloidi nel regno vegetale et animale*, 1887.

(3) De Varigny, *L'atropine est-elle un engrais pour les plantes?* (Rev. gén. de Bot., t. IV, 1892).

été plantées dans du sable additionné de l'engrais ci-après :

Solution mère sans azote.....	30 ^{cc}
Chlorhydrate de morphine.....	0 ^{gr} ,50

De même que dans un certain nombre d'autres expériences, les plantes ne tardèrent pas à périr; elles n'ont pu être analysées.

Zea Maïs.

Le 16 octobre 1896, un autre essai a été entrepris avec 10 graines de Maïs plantées dans un substratum de même composition.

Le 27 novembre, les plantes ont été arrachées, et trois d'entre elles qui ne présentaient aucun signe extérieur d'altération ont été analysées.

1° Le poids sec moyen d'une plante était de 121 milligrammes, soit une perte de 13^{mgr},5 par rapport au poids de la graine.

2° *Dosage de l'azote total de la plante :*

Poids de substance prélevé.....	343 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	8 ^{cc} ,7
T = 16°.	
Pr. atm. = 759 ^{mm} .	

Le poids d'azote d'une plante est alors :

$$P = 3^{\text{mgr}},60$$

Soit une perte de 0^{mgr},93 ou 20,52 p. 100, par rapport à l'azote initial de la graine.

Helianthus annuus.

Le 23 août 1897, 10 graines d'*Helianthus annuus* ont été plantées dans un sol composé comme celui des essais précédents.

Le 8 octobre, 8 plantes ont été recueillies avec les téguments des graines correspondantes.

1° Le poids moyen sec d'une plante était de 64^{mgr},6, soit un léger gain de 0^{mgr},8 sur le poids sec de la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	170 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	5 ^{cc} ,5
T = 12°.	
Pr. atm. = 763 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est par suite :

$$P = 2^{\text{mgr}},50.$$

Ce qui représente une perte de 0^{mgr},60 ou 19,35 p. 100, par rapport au poids d'azote contenu dans la graine.

Résultats. — Le chlorhydrate de morphine, pas plus que les chlorhydrates des alcaloïdes précédemment étudiés, ne peut servir aux plantes de source d'azote directement assimilable.

Pipéridine.

Sel employé : Chlorhydrate.

Plante : *Cucumis Melo*.

Cucumis Melo.

Le 23 janvier 1898, 10 graines de Melon ont été plantées dans du sable calciné additionné de l'engrais ci-après :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de pipéridine.....	0 ^{gr} ,50

La germination s'est effectuée dans de mauvaises conditions : les téguments des graines ont éclaté, mais l'embryon ne s'est pas développé; les cotylédons ont néanmoins pris de la chlorophylle.

Le 3 mars, 4 graines ont été recueillies en cet état, avec leurs téguments.

1° Le poids moyen sec d'une graine germée est de 40^{mgr},5, soit une perte de 6^{mgr},5 sur le poids initial.

2° *Dosage de l'azote total :*

Poids de substance prélevé.....	162 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	10 ^{cc} ,2
T = 12°.	
Pr. atm. = 759 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une graine germée est donc :

$$P = 3^{\text{mgr}},04.$$

Ce nombre est sensiblement le même que celui qui exprime le poids d'azote initial de la graine ($3^{\text{mgr}},03$).

Résultats. — De même que les autres sels d'alcaloïdes, le chlorhydrate de pipéridine est impropre à la nutrition des végétaux phanérogames. On remarquera que, dans le cas de la germination incomplète du Melon, il n'y a pas eu de perte d'azote.

Remarques générales.

On vient de voir, par ces diverses expériences, que les amines provenant de la substitution dans l'ammoniaque de un ou plusieurs radicaux à exposants peu élevés pouvaient parfaitement servir comme sources d'azote directement assimilable pour les végétaux phanérogames, et cela sans avoir eu besoin de subir dans le sol une transformation en sels ammoniacaux ou en nitrates.

On a vu également que les phénylaminés, naphtylaminés, alcaloïdes végétaux non transformés en sels, etc., exerçaient sur la plante une action toxique plus ou moins puissante.

De plus, on a constaté que, si l'on fait végéter des plantes dans un sol renfermant tout son azote à l'état de sels d'alcaloïdes ou d'amminés dont les radicaux substitués sont à exposant élevé, ces plantes, dans les conditions expérimentales décrites plus haut, ont éprouvé une perte d'azote.

Il convient de faire remarquer que, dans ces cas, la végétation a été poussée jusqu'aux plus extrêmes limites qu'il ait été possible d'atteindre sans qu'il y eût d'altération de la plante visible à l'extérieur.

Or, l'opinion générale actuelle est que, pendant la germination, même prolongée, les plantes ne perdent pas

d'azote ou n'en perdent que des quantités très faibles, lorsque cette germination a lieu sans que le substratum contienne d'azote assimilable.

Il existe cependant un certain nombre d'observations contraires.

C'est ainsi que Boussingault (1), ayant fait germer et végéter 10 graines de Pois à l'obscurité pendant plusieurs semaines, a constaté; à la fin de l'expérience, que ses plantes contenaient 0^{gr},072 d'azote total, alors que les graines en renfermaient 0^{gr},094, soit une perte de 0^{gr},022.

Dans une autre expérience, faite avec 46 grains de Blé et 1 grain de Maïs, il ne trouva aucune perte d'azote, et il en déduisit que la perte d'azote de la première expérience tenait à une altération des Pois.

D'autre part, dans la germination des Haricots, Schröder (2) et Karsten (3) ont également observé une perte d'azote.

Sachsse (4), en 184 heures, n'en a pas observé sur le Pois.

Detmer (5), Leclerc (6) et Loskowsky (7), opérant sur des plantes différentes, arrivent au même résultat.

Boussingault (8), revenant sur ce sujet, suppose que la plante perd de l'azote lorsqu'elle décompose des nitrates qui lui sont offerts pendant la végétation à l'obscurité, et qu'alors elle produit un dégagement d'azote libre.

Frank (9), faisant pousser des plantes avec ou sans azote, à l'obscurité, constate de grandes pertes d'azote. Il admet que cet azote disparaît à l'état gazeux, attribue ce phéno-

(1) Boussingault, *C. R.*, t. LVIII, p. 884.

(2) Schröder, *Landw. Versuchs-st.*, vol. X, p. 493.

(3) Karsten, *Landw. Versuchs-st.*, vol. XIII, p. 193.

(4) Sachsse, *Keimung von Pisum sativum*, Leipzig, 1872, p. 22.

(5) Detmer, *Physiologisch-Chemische Untersuch. über die Keimung*, 1873, p. 27 et 163.

(6) Leclerc, *C. R.*, t. LXXX, p. 26.

(7) Loskowsky, *Landw. Versuchs-st.*, vol. XVII, p. 219.

(8) Boussingault, *Ann. Ph. et Ch.*, 5^e série, t. XXII.

(9) Frank, *Landw. Jahrb.*, 1888, p. 424.

mène à des putréfactions intimes, et conteste les hypothèses de Boussingault relatives à la décomposition des nitrates.

Schlœsing fils (1), opérant sur des germinations de Blé et de Lupin et se rapprochant le plus possible des conditions de germination normale, constate que le Blé en dix jours et le Lupin en un mois n'ont pas perdu d'azote.

Or, les résultats obtenus ci-dessus avec des cultures faites dans des substratums contenant leur azote à l'état de sels d'amines dont le radical substitué possède une grandeur moléculaire élevée, ou à l'état de sels d'ammoniums composés ou d'alcaloïdes, comportent des pertes d'azote.

Il y a donc lieu de préciser les conditions du phénomène, de savoir sous quelle forme cet élément disparaît, et de rechercher la cause déterminante de la perte de cet élément.

**Sous quelle forme l'azote perdu dans les expériences
précédentes s'est-il dégagé ?**

On a vu précédemment que des germinations maintenues pendant un certain temps dans des sols contenant, en guise de sources d'azote, des amines de formule moléculaire élevée ou des alcaloïdes, avaient donné lieu à des pertes sensibles d'azote.

Pour savoir sous quelle forme l'azote perdu avait disparu, quelques modifications ont été apportées à l'appareil de culture. La cloche, au lieu de reposer sur une solution aqueuse de sublimé, repose sur du mercure. Elle reçoit de l'air préalablement privé d'ammoniaque par barbotage dans une solution d'acide sulfurique pur, puis lavé dans de l'eau distillée rigoureusement pure, afin de retenir les traces d'acide qui auraient pu être entraînées.

Au sortir de la cloche, l'air vient barboter dans un tube à boules de Liebig contenant du réactif de Nessler ; enfin, à la suite de ce tube, est disposé un dernier laveur à eau pour

(1) Schlœsing fils, *Contribution à l'étude de la germination* (C. R., t. CXX, p. 1278).

éviter les rentrées d'air possibles par ce côté de l'appareil.

Deux expériences ont été faites dans ces conditions.

Expérience I. — Cette expérience a duré du 23 janvier au 24 février 1898. Elle a été effectuée à l'aide de graines de *Cucurbita maxima*, mais les différents lots préparés au début de ces recherches étant épuisés, il en a été préparé de nouveaux.

Un de ces lots a été planté dans du sable additionné du mélange ci-après :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de caféine.....	0 ^{gr} ,50

Un deuxième lot a été analysé et a donné les résultats suivants :

Poids moyen d'une graine.....	196 ^{mgr} ,25
Azote total de la graine.....	17 ^{mgr} ,36

A la fin de l'essai, il a été procédé à l'analyse des plantes.

1° Le poids moyen d'une plante, y compris les téguments de la graine correspondante, était de 174^{mgr},25, soit une perte de 12 milligrammes par rapport au poids initial de la graine.

2° *Dosage de l'azote total d'une plante :*

Poids de substance prélevé.....	190 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	14 ^{cc} 6
T = 11°.	
Pr. atm. = 732 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 13^{\text{mgr}},88.$$

Soit une perte de 1^{mgr},478 ou 8,50 p. 100 de l'azote initial de la graine.

On a pu constater, en outre, que le réactif de Nessler, placé dans le tube de Liebig, n'a éprouvé aucune modification pendant toute la durée de l'expérience.

Une portion du sol, lixiviée à l'eau distillée, puis essayée

à l'aide du même réactif, n'a pas donné le précipité ocracé caractéristique de l'ammoniaque.

Une autre portion du sol, également lixiviée par de l'eau distillée et essayée par la méthode de Schlöesing, n'a décelé aucune trace de composés oxygénés de l'azote.

Enfin, l'examen bactériologique de ce même sol a permis de constater qu'il ne renfermait pas de micro-organismes.

Dans ces conditions, puisque l'azote ne s'est dégagé ni sous forme nitrique, ni sous forme ammoniacale, il n'a pu le faire qu'à l'état gazeux.

Expérience II. — Cette expérience a porté sur des graines de *Cucumis Melo* qui ont été plantées dans du sable additionné du mélange suivant :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Tyrosine.....	0 ^{gr} ,50

Cette expérience, qui a déjà été relatée précédemment, a donné les résultats suivants :

1 ^o Poids moyen d'une plante sèche....	45 ^{mgr} ,33
Soit une perte de poids sec de 3 ^{mgr} ,67.	
2 ^o Poids de l'azote total d'une plante..	2 ^{mgr} ,515.
Soit une perte d'azote de 0 ^{mgr} ,512 ou	
16,91 p. 100.	

De même que dans la première expérience, le réactif de Nessler, placé dans le tube de Liebig, ne s'est pas troublé, et l'essai du sol n'a décelé la présence ni de composés ammoniacaux, ni de composés nitriques, ni de micro-organismes.

On peut donc admettre que l'azote a disparu à l'état gazeux.

Quelles sont les causes des pertes d'azote observées dans les expériences précédentes ?

On vient de voir que les plantes, placées dans des milieux nutritifs contenant de l'azote sous une forme inassimilable, perdent, à l'état gazeux, et après un certain temps

de végétation, une fraction notable de leur azote initial.

Pour savoir quelle était la cause de cette perte, on pouvait imaginer la série suivante d'expériences : plusieurs lots de graines provenant de la même plante ont été choisis de manière à peser rigoureusement le même poids, puis :

1° Les uns ont été analysés ;

2° D'autres mis en végétation à longue échéance dans du sable calciné uniquement imbibé d'eau distillée ;

3° D'autres mis en végétation à longue échéance dans un milieu nutritif contenant de l'azote sous une forme directement inassimilable ;

4° D'autres enfin mis en végétation à brève échéance dans le même milieu.

Dans ces conditions, si le lot 4 ne perd pas d'azote, ou n'en perd que très peu, et que les lots 2 et 3 en perdent une quantité notable, on devra attribuer cette perte d'azote à des altérations intimes des tissus de la plante maintenue longtemps en état d'inanition.

Si le lot 3 manifeste une perte d'azote, et que le lot 2 n'en manifeste pas, on devra au contraire conclure que c'est le milieu nutritif renfermant de l'azote inassimilable qui joue un rôle prépondérant dans ce phénomène.

Il convient, avant d'entrer dans le détail des expériences, de faire remarquer que les sols de culture, à la suite de chaque expérience, ont été analysés, afin d'y rechercher la présence ou l'absence de micro-organismes et de produits de fermentation ammoniacale ou nitrique. Seules les expériences donnant sur tous ces points des résultats négatifs ont été retenues.

De plus, afin de pouvoir garantir de la manière la plus absolue la teneur rigoureusement égale des graines en azote initial, il a été analysé quatre lots de chacune des graines. Les résultats obtenus ont présenté entre eux des différences extrêmement faibles : la différence maxima observée a été de 0^mgr,1 sur la quantité d'azote contenue dans chaque

graine. On peut donc affirmer la composition constante des graines soumises à l'analyse, et par suite de celles mises en culture.

Les expériences ont porté sur des graines de *Cucurbita maxima* et d'*Ipomœa purpurea*.

I. — *Cucurbita maxima*.

Outre les lots de graines analysés, un lot a été planté dans du sable additionné seulement d'eau distillée, et deux dans du sable auquel a été ajoutée la solution nutritive suivante :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate de morphine.....	0 ^{gr} ,50

1^{re} Analyse de graines. — Résultat moyen de l'analyse de quatre lots de 10 graines :

Poids moyen sec d'une graine.....	206 ^{mgr} ,5
Poids de l'azote total d'une graine.....	47 ^{mgr} ,49

2^{re} Graines semées dans le sable additionné seulement d'eau distillée :

Durée de l'expérience : du 28 juin au 5 août 1898.

Poids moyen d'une plante.....	227 ^{mgr} ,5
-------------------------------	-----------------------

Dosage de l'azote contenu dans une plante :

Poids de substance prélevé.....	290 ^{mgr}
Volume de l'azote recueilli.....	43 ^{cc} ,2
T = 20°.	
Pr. atm. = 760 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 42^{\text{mgr}},88.$$

Perte par rapport à l'azote initial de la graine : 5^{mgr},44.

3^{re} Graines semées dans du sable additionné de la solution à base de morphine. Expérience de longue durée.

Durée de l'expérience : du 28 juin au 5 août 1898.

Poids moyen d'une plante.....	234 ^{mgr} .
-------------------------------	----------------------

Dosage de l'azote total contenu dans une plante :

Poids de substance prélevé.....	272 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	42 ^{cc} ,6
T = 18°.	
Pr. atm. = 757 ^{mm} .	

Le poids d'azote renfermé dans une plante est donc :

$$P = 12^{\text{mgr}},67.$$

Perte sur le poids de l'azote contenu dans la graine :
4^{mgr},42.

4° *Graines semées dans le sable additionné de la solution à base de morphine. Expérience de courte durée :*

Durée de l'expérience : du 28 juin au 16 juillet 1898.

Poids moyen d'une plante.....	182 ^{mgr} ,5
-------------------------------	-----------------------

Dosage de l'azote total d'une plante :

Poids de substance prélevé.....	288 ^{mgr}
Volume d'azote recueilli.....	17 ^{cc} ,5
T = 18°.	
Pr. atm. : = 758 ^{mm} .	

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 13^{\text{mgr}},0.$$

Perte par rapport à l'azote initial de la graine : 4^{mgr},19.

II. — *Ipomæa purpurea*.

Outre les graines analysées, un lot a été planté dans du sable additionné d'eau distillée, et deux dans du sable additionné de la solution suivante :

Solution mère sans azote.....	50 ^{cc}
Chlorhydrate d'allylamine.....	0 ^{gr} ,50

1° *Analyse des graines. — Résultat moyen de l'analyse de quatre lots de dix graines :*

Poids sec d'une graine.....	25 ^{mgr} ,5
Azote total contenu dans une graine.....	1 ^{mgr} ,49

2° *Graines semées dans le sable additionné d'eau distillée :*
Durée de l'expérience : du 28 juin au 5 août 1898.

Poids moyen sec d'une plante..... 23^{mgr}

Dosage de l'azote contenu dans une plante :

Poids de substance prélevé..... 125^{mgr}
Volume d'azote recueilli..... 5^{cc},2
T = 15°
Pr. atm. = 756^{mm}.

Le poids d'azote contenu dans une plante est donc :

$$P = 1^{\text{mgr}},22.$$

Soit une perte, par rapport à l'azote de la graine, de 0^{mgr},27.

3° *Graines semées dans du sable additionné d'allylamine.*
Expérience de longue durée.

Durée de l'expérience : du 28 juin au 5 août 1898.

Il y a lieu de remarquer que les graines de ce lot ont germé tardivement et que, par suite de la compacité du sol, leurs racines n'ont pu y pénétrer. On peut donc considérer ces plantes comme étant restées à l'état de germination prolongée.

Poids moyen d'une plante..... 20^{mgr}

Dosage de l'azote total d'une plante :

Poids de substance prélevé..... 200^{mgr}
Volume d'azote recueilli..... 12^{cc},4
T = 15°.
Pr. atm. = 761^{mm}.

Le poids d'azote contenu dans la plante est donc :

$$P = 1^{\text{mgr}},47.$$

Ce poids est le même que celui de l'azote initial de la graine. Le résultat de cette expérience, rapproché de ceux obtenus précédemment avec du chlorhydrate de tétraméthylammonium et du chlorhydrate de pipéridine, tend à

confirmer l'opinion qui se généralise actuellement, à savoir que, pendant la germination, même prolongée, les graines ne perdent pas d'azote.

4° *Graines semées dans du sable additionné d'alylamine. Expérience de courte durée :*

Durée de l'expérience : du 28 juin au 16 juillet 1898.

Poids moyen d'une plante..... 49^{mgr},46

Dosage de l'azote d'une plante :

Poids de substance prélevé..... 115^{mgr}

Volume d'azote recueilli..... 7^{cc},4

T = 18°.

Pr. atm. = 756^{mm}.

Le poids d'azote renfermé dans une plante est par suite :

$$P = 4^{\text{mgr}},53.$$

Ce chiffre est sensiblement égal à celui trouvé dans la graine.

Résultats. — Dans les expériences qui viennent d'être rapportées, les plantes ayant poussé dans le sol additionné d'eau distillée ont perdu de l'azote tout aussi bien que les autres. Il en résulte que cette perte est une conséquence de la végétation prolongée des plantes en état d'inanition azotée, et non d'une action particulière du substratum. La rapidité avec laquelle se produit cette perte est variable suivant les espèces, puisque le *Cucurbita maxima* l'a accusée dans une végétation de courte durée, tandis que l'*Ipomœa purpurea*, dans les mêmes conditions, ne la présentait pas.

L'une des expériences, effectuées avec l'*Ipomœa purpurea*, dans laquelle les plantes sont restées en état de germination prolongée, et n'ont pas perdu d'azote, rapprochée d'autres précédemment citées, montre que le phénomène de perte est également lié au développement de la plante. Tant que la graine germe, il n'y a aucune perte;

ce stade étant dépassé, de l'azote disparaît, même en l'absence de micro-organismes. On ne peut donc attribuer ce fait qu'à une sorte d'auto-fermentation, comparable jusqu'à un certain point à celle qui se produit pour les matériaux carbonés dans certaines conditions bien déterminées, et qui n'est probablement pour la plante qu'un des prodromes de la mort.

CHAPITRE II

NUTRITION DES ALGUES.

Je me suis proposé, dans cette deuxième partie, d'appliquer aux Algues d'eau douce les recherches de nutrition entreprises avec les Phanérogames, et de rechercher si ces plantes pouvaient aussi puiser l'azote dont elles ont besoin pour se développer dans les amines, les sels d'ammoniums composés et les alcaloïdes.

Étant données les faibles quantités pondérales de substance obtenues par la culture de ces végétaux, ces expériences ne peuvent être que purement qualitatives, et on doit se borner à faire mention des succès ou des insuccès, sans chercher à établir les proportions d'azote assimilées.

La nutrition normale des Algues d'eau douce a été étudiée tout récemment par plusieurs auteurs, notamment par Molisch (1), qui a donné la formule suivante d'un milieu nutritif convenant à leur développement :

Eau distillée.....	1000	Sulfate de chaux.....	0,20
Azotate de potasse.....	0,20	Sulfate de fer.....	trace
Phosphate de potasse.....	0,20	Carbonate de chaux, q. s. pour neutraliser.	
Sulfate de magnésie.....	0,20		

Je me suis inspiré des travaux de Molisch pour établir un liquide de culture type et ses diverses modifications. De plus,

(1) Molisch, *Die Ernährung der Algen (Süßwasseralgen)* (Sitzungb. der K. K. Akad. der Wissensch., Wien, 1895 et 1896).

devant remplacer dans les divers milieux de culture l'azote nitrique par de l'azote organique, et voulant que cet azote fût en quantité égale dans tous les milieux, j'ai calculé la quantité de chaque amine, sel d'ammonium ou alcaloïde qu'il fallait introduire à l'état de chlorhydrate dans chaque liquide pour leur conserver à tous une teneur égale en azote.

Comme l'emploi de chlorhydrate modifiait par l'apport du chlore la formule de Molisch, j'ai ajouté au liquide type la quantité de chlorure de potassium dont le chlore correspondait à celui introduit dans les autres liquides. Enfin, chacun des derniers milieux a reçu, en supplément, 0^{gr},20 de sulfate de potasse pour compenser partiellement la potasse qui avait été enlevée par la suppression de l'azotate de potasse.

Voici, du reste, résumées en tableau, les formules de ces divers liquides de culture.

LIQUIDES A BASE DE :	Eau distillée.	Azotate de potasse.	Phosphate de potasse.	Sulfate de magnésie.	Sulfate de chaux.	Sulfate de fer.	Chlorhydrate de l'amine.	Sulfate de potasse.	Chlorure de potassium.	Carbonate de chaux.
Type.....	1000	0,200	0,200	0,200	0,200	Trace	»	»	0,372	0 s. pour neutraliser
Triméthylamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,477	0,200	»	q. s.
Diéthylamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,547	0,200	»	q. s.
Propylamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,477	0,200	»	q. s.
Isobutylamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,547	0,200	»	q. s.
Amylamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,607	0,200	»	q. s.
Allylamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,521	0,200	»	q. s.
Benzyllamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,716	0,200	»	q. s.
Pyridine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,643	0,200	»	q. s.
Naphtylamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,896	0,200	»	q. s.
Diphénylamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,926	0,200	»	q. s.
Glycolamine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,557	0,200	»	q. s.
Bétaine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,856	0,200	»	q. s.
Tétraméthylammonium.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,547	0,200	»	q. s.
Tétraéthylammonium.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,846	0,200	»	q. s.
Cocaïne.....	10,00	»	0,200	0,200	0,200	—	1,696	0,200	»	q. s.
Quinine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	0,930	0,200	»	q. s.
Morphine.....	1000	»	0,200	0,200	0,200	—	1,875	0,200	»	q. s.

150 c.c. de chacune de ces solutions sont introduits dans des fioles d'Erlenmeyer bouchées avec un tampon de coton, et ces fioles sont ensuite stérilisées à l'autoclave à 120°.

Les précautions suivantes ont, du reste, été observées dans la préparation de ces liquides :

Les sels ont été préparés avec toutes les garanties de pureté désirables et soumis ensuite à plusieurs recristallisations dans l'alcool absolu. L'eau distillée a été redistillée avec le plus grand soin, de façon que le produit final ne contint aucune trace d'élément étranger.

Ainsi préparés, les flacons, contenant les liquides de culture, ont étéensemencés avec toutes les précautions usitées en bactériologie, à l'aide d'un fil de platine préalablement flambé, et portant une trace d'une culture pure des Algues à expérimenter.

Les cultures d'Algues exigeant un temps relativement long pour leur complet développement (environ deux mois), l'expérience doit avoir une durée assez prolongée.

Expérience I. — Ce premier essai a été effectué à l'aide de *Protococcus viridis*.

Le 20 février 1897, une série de flacons, préparés comme il est dit plus haut, ont étéensemencés avec une trace d'une culture pure de cette Algue. Ces flacons ont été ensuite abandonnés près d'une fenêtre, à la température ordinaire.

Très rapidement (en trois ou quatre jours), les Algues, déposées comme semence dans les fioles contenant les liquides à base de naphtylamine et de diphénylamine, sont mortes. Celles des fioles contenant des liquides à base d'alcaloïdes ne tardent pas à périr également, ainsi que celles des fioles à base de sels d'ammoniums composés, puis, un peu plus tard, celles des fioles contenant de la bétaine et de la glycolamine.

Au bout de quinze jours, il est possible de noter un commencement manifeste de développement des Algues dans les autres flacons. Seules, les cultures faites dans la benzylamine et l'allylamine semblent boudier, bien que les cellules constituant la semence soient encore vertes.

Au bout d'un mois, on peut apercevoir, sur les parois des vases et à la surface des liquides qu'ils renferment, un

notable développement d'Algues. Ce phénomène commence à se manifester également dans les liquides à base de benzylamine et d'allylamine.

L'expérience est arrêtée au bout de deux mois, avec une abondante végétation dans la plupart des fioles, c'est-à-dire dans celles contenant de la triméthylamine, diéthylamine, propylamine, butylamine, amylamine, benzylamine et pyridine. Dans la fiole contenant de l'allylamine, les Algues ont poussé, quoique peu abondamment.

Expérience II. — Commencée le 24 avril 1897, cette expérience a été exécutée avec des filaments d'une Conjuguée très commune, le *Mesocarpus pleurocarpus*. Les résultats fournis par cette deuxième expérience sont identiques à ceux de la première.

On a pu noter une mort rapide des filamentsensemencés dans les liquides à base de naphtylamine, diphénylamine, alcaloïdes, sels d'ammoniums composés, bétaine et glycolamine, et un développement tardif dans la benzylamine et l'allylamine. Les Algues y ont néanmoins poussé et, finalement, la multiplication des filaments a été observée dans les liquides à base de triméthylamine, diéthylamine, propylamine, isobutylamine, amylamine, benzylamine, allylamine et pyridine.

Dans les fioles contenant les termes inférieurs de la série des amines, le développement des Algues a été tel que, au bout de deux mois, ces fioles étaient entièrement remplies par leurs filaments.

Expérience III. — Effectuée avec une Oscillaire, cette expérience a été de longue durée (28 octobre 1897-16 février 1898).

Plus résistantes que les espèces précédentes, les Oscillaires se sont développées dans quelques liquides où les autres Algues n'avaient pu croître.

On a pu obtenir une abondante récolte dans les liquides à base de triméthylamine, propylamine, isobutylamine, amylamine, pyridine, et une culture moins belle dans la diéthyl-

amine et l'allylamine, ainsi que dans la bétaine, la glycolamine et les sels d'ammoniums composés.

Les Algues ne se sont pas développées dans la benzylamine, et elles ont péri rapidement au contact des milieux renfermant de la naphtylamine, de la diphénylamine et des sels d'alcaloïdes.

Résultats. — Ces expériences montrent que les Algues d'eau douce se comportent, vis-à-vis des substances azotées organiques (amines, sels d'ammoniums composés et alcaloïdes) de la même manière que les plantes phanérogames. Elles peuvent assimiler l'azote qui leur est présenté sous cette forme, quand les composés azotés sont des amines dont le radical substitué est à exposant peu élevé.

Moins difficiles que les Phanérogames, elles ont pu emprunter l'azote qui leur est nécessaire à la benzylamine, à l'allylamine et à la pyridine.

Certaines d'entre elles, les Oscillaires, réputées déjà pour leur rusticité, ont pu même extraire cet azote d'amines à formule atomique complexe : bétaine et glycolamine, et de sels d'ammoniums composés.

Enfin, la naphtylamine et la diphénylamine sont puissamment toxiques, et les alcaloïdes sont impropres à assurer la nutrition azotée des Algues.

CHAPITRE III

NUTRITION DES CHAMPIGNONS.

Les expériences de nutrition faites avec les Champignons sont généralement instructives, d'abord parce que ces plantes poussent avec une telle rapidité que les causes d'erreurs extérieures sont notablement diminuées; ensuite parce que le poids des spores, apportées comme semence, peut être considéré comme nul.

Il en résulte que les Champignons peuvent servir de moyen indirect d'analyse pour apprécier la plus ou moins grande facilité avec laquelle les matériaux nutritifs sont assimilables. Il suffit pour cela de préparer des milieux nutritifs de *composition élémentaire constante* et égale à celle d'un type déjà connu.

Les poids de Champignons, obtenus à la fin de l'expérience, sont entre eux dans les mêmes proportions que les pouvoirs nutritifs des milieux en présence.

Or on possède, depuis les recherches de Raulin, un liquide type dans lequel on obtient le rendement maximum d'une Mucédinée, l'*Aspergillus niger*. Ce liquide réussit également bien pour la culture d'une autre Moisissure, le *Penicillium glaucum*.

Il était donc tout indiqué de prendre comme base de recherches le liquide de Raulin, et d'opérer avec les deux Champignons susceptibles de s'y développer avec le maximum d'intensité.

J'ai donc calculé les formules de milieux nutritifs, modifications du liquide de Raulin, dans lesquels l'azote minéral et ammoniacal serait remplacé par de l'azote sous forme de combinaisons aminées ou alcaloïdiques, ainsi qu'il a été fait pour les Phanérogames et les Algues.

Les quantités de chlorhydrates d'amines ou d'alcaloïdes, introduites dans les divers liquides, ont été calculées de telle sorte que l'azote qu'ils renfermaient fût en quantité constante et égale à celle du liquide type de Raulin.

Pour compenser le chlore, introduit sous forme d'acide chlorhydrique, j'ai ajouté au liquide type de Raulin la quantité de chlorure de potassium correspondante.

Le potassium, ainsi surajouté au liquide de Raulin modifié, a été compensé dans tous les autres liquides par l'addition de la quantité correspondante de tartrate neutre de potasse, et l'acide tartrique, provenant de ce tartrate, diminué sur la quantité d'acide tartrique libre introduit dans la formule primitive.

L'addition de sels d'amines, d'ammoniums composés ou d'alcaloïdes, entraîne également, dans les divers milieux, l'apport d'un excès de carbone. Cet excès a été calculé et, après avoir été rapporté au sucre, diminué sur la quantité de cette substance existant dans la formule de Raulin.

De la sorte, tous les liquides présentent, quant aux éléments nutritifs, une composition élémentaire rigoureusement la même.

Les résultats des expériences seront donc comparables entre eux, et, des poids finaux des Champignons, on pourra conclure au degré d'assimilabilité, par ces végétaux, des divers produits expérimentés.

Voici, résumées en tableau, les formules des différents liquides de culture :

SUBSTANCES contenant dans la formule.	LIQUIDES à base de : ↑	SANS AZOTE	MONOXYTHYLAMINE	DIMÉTHYLAMINE	TRIMÉTHYLAMINE	DITHYLAMINE	PROPYLAMINE	ISOBUTYLAMINE	AMYLAMINE	BÉZYLAMINE	ALTYLAMINE	NAPHTHYLAMINE	DIPHÉNYLAMINE	BÉTAÏNE	GLYCOLAMINE	PYRIDINE	PIRÉDINE	LEUCINE	TÉTRAMÉTHYLAMMONIUM	TÉTRAÉTHYLAMMONIUM	CAFFEÏNE	COCAÏNE	QUININE	MORPHINE
Eau distillée.....		1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300
Sucre candi.....		70	66,80	63,69	60,28	57,18	60,28	57,18	63,50	64,49	60,36	37,03	31,33	33,97	63,69	56,00	33,97	50,70	57,18	44,35	63,59	45,40	37,03	15,52
Acide tartrique.....		8,43	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	8,43	»	»	»	»	»	»
Tartrate neutre de potasse.....		»	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	»	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76
Nitrate d'ammoniaque.....		4,50	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Phosphate de potasse.....		0,60	0,60	0,40	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Carbonate de magnésie.....		0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Sulfate de potasse.....		0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Sulfate de zinc.....		0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Sulfate de fer.....		0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Silicate de potasse.....		0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Chlorhydr. de l'amine employée.		»	7,60	9,03	10,75	12,32	10,75	12,32	13,90	16,14	10,53	20,20	23,12	19,26	12,54	13,04	9,36	14,74	12,82	18,62	6,18	38,20	20,85	12,24
Chlorure de potassium.....		8,40	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	8,40	»	»	»	»	»	»

Les expériences ont été faites de la manière suivante :

150 centimètres cubes de chacune de ces solutions sont introduits dans des cristallisoirs de forme large, de façon que le liquide ne présente pas une épaisseur de plus de 2 centimètres. Ces cristallisoirs sont recouverts par une lame de verre rodée ou par un autre cristallisoir renversé, et le tout est stérilisé à l'autoclave à 120°.

Les spores des Champignons, prélevées sur une culture pure à l'aide d'une aiguille de platine flambée, sont introduites dans les divers liquides, et les cultures sont disposées à l'étuve à 35°.

Lorsque le développement des Champignons ne paraît plus faire de progrès et que leur sporulation est complète dans le liquide type, l'expérience est arrêtée.

Le contenu des cristallisoirs est versé sur des filtres tarés, lavés au préalable à l'eau distillée. Lorsque tout le liquide est écoulé, on lave le Champignon resté sur le filtre avec de l'eau distillée ; finalement les filtres sont séchés à l'étuve et pesés.

Voici les résultats des expériences :

Aspergillus niger.

Le 12 novembre 1896, j'ai disposé une série de cristallisoirs contenant des liquides nutritifs préparés comme l'indique le tableau précédent, et je les aiensemencés avec quelques spores d'*Aspergillus niger*.

Le développement du Champignon s'est effectué avec régularité, et, le 23 novembre (11 jours après), l'expérience a été arrêtée.

Les Champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, lavés, séchés et pesés.

On a obtenu les poids suivants, qui sont comparés au poids obtenu avec le liquide type sans azote.

LIQUIDES A BASE DE :	POIDS de Champignon recueilli (en grammes).	GAIN sur liquide sans azote (en grammes).	PERTE sur liquide sans azote (en grammes).
Sans azote	0,040	»	»
Raulin modifié	5,505	5,465	»
Monométhylamine.....	4,733	4,693	»
Diméthylamine.....	4,213	4,173	»
Triméthylamine.....	2,585	2,545	»
Diéthylamine.....	2,790	2,750	»
Propylamine.....	3,453	3,413	»
Isobutylamine.....	2,418	2,078	»
Amylamine.....	3,233	3,193	»
Allylamine.....	2,282	2,242	»
Benzylamine.....	0,137	0,097	»
Naphtylamine.....	»	»	0,040
Diphénylamine.....	»	»	0,040
Pyridine.....	0,027	»	0,013
Glycolamine.....	0,487	0,447	»
Bétaine.....	1,255	1,215	»
Tétraméthylammonium	0,039	»	0,001
Tétraéthylammonium.....	0,091	0,051	»
Caféine.....	0,042	0,002	»
Quinine.....	0,030	»	0,010
Cocaïne.....	0,015	»	0,025
Morphine.....	0,003	»	0,037
Pipéridine.....	»	»	0,040

J'ai ensuite essayé les liquides de culture au point de vue de la fermentation ammoniacale par le réactif de Nessler. Quelques-uns de ces liquides ont donné un très léger précipité rouge-brique par le réactif, indice de la présence de sels ammoniacaux ; mais ce fait est loin d'être constant, et la plupart des liquides ne l'ont pas donné.

Cette légère fermentation doit être évidemment attribuée à ce que certains Champignons qui s'étaient développés avec rapidité avaient, à la fin de l'expérience, subi une légère altération de quelques filaments à la suite de l'épuisement du milieu nutritif.

Un certain nombre de liquides, pris au hasard, ont été également, à la fin de l'expérience, l'objet d'un examen bactériologique, afin de rechercher s'il s'y était produit un développement de bactéries susceptibles de modifier les conditions de vie des cultures. Cet examen a donné des résultats négatifs.

Il y a lieu de noter également ce fait que, dans les liquides où les Champignons se sont développés avec peine, sans pouvoir utiliser l'azote organique qui leur était offert, ces organismes se sont développés en affectant la forme levure.

Enfin, plusieurs autres séries de cultures, faites avec les mêmes liquides, stérilisés ou non au préalable, ont donné des résultats absolument de même ordre. Je ne les mentionnerai, par suite, pas en détail.

Penicillium glaucum.

Le 24 novembre 1896, une autre série de liquides nutritifs a étéensemencée avec des spores de *Penicillium glaucum*. L'expérience a pris fin le 9 décembre (15 jours après). Voici les poids de Champignons obtenus.

LIQUIDES A BASE DE :	POIDS de Champignon obtenu (en grammes).	GAIN sur liquide sans azote (en grammes).	PERTE sur liquide sans azote (en grammes).
Sans azote.....	0,030	»	»
Monométhylamine.....	3,658	3,628	»
Diméthylamine.....	3,099	3,069	»
Triméthylamine.....	2,750	2,720	»
Diéthylamine.....	2,088	2,058	»
Propylamine.....	2,963	2,933	»
Isobutylamine.....	1,810	1,780	»
Amylamine.....	2,678	2,648	»
Benzylamine.....	»	»	0,030
Naphtylamine.....	»	»	0,030
Diphénylamine.....	»	»	0,030
Pyridine.....	0,013	»	0,017
Glycolamine.....	2,330	2,300	»
Bétaine.....	0,620	0,590	»
Leucine.....	1,300	1,270	»
Tétraméthylammonium.....	0,006	»	0,024
Tétraéthylammonium.....	0,018	»	0,012
Caféine.....	0,045	0,015	»
Cocaïne.....	0,010	»	0,020
Quinine.....	0,030	0	0
Morphine.....	0,002	»	0,028

Il y a lieu de répéter les mêmes remarques que dans les expériences sur l'*Aspergillus*, au point de vue de l'absence

de bactéries et de la forme levure affectée par les filaments mycéliens du Champignon dans les liquides nutritifs pauvres en azote assimilable.

Remarques générales.

Si l'on rapproche les résultats obtenus avec le *Penicillium* et l'*Aspergillus*, on voit que les quantités de Champignons recueillis dans les deux cas sont dans des proportions semblables, relativement les unes aux autres.

De même que les Phanérogames et les Algues, les Champignons peuvent puiser l'azote qui leur est nécessaire dans des combinaisons azotées organiques de l'ordre des amines, pourvu, toutefois, que le radical substitué à l'hydrogène dans ces composés ne possède pas un exposant trop élevé.

Les amines phénoliques (naphtylamine et diphénylamine) n'ont permis aucun développement de Champignons dans les liquides renfermant leur azote à cet état.

La benzylamine s'est montrée un aliment très médiocre ; quant aux sels d'ammoniums composés et aux alcaloïdes, ils n'ont pas non plus donné de bons résultats.

Si maintenant l'on compare entre eux les poids de Champignons obtenus avec les divers milieux et qu'on les rapproche de la composition des divers sels azotés mis en présence, on pourra constater les faits suivants :

Plus la grandeur moléculaire du radical substitué à l'hydrogène dans les amines est élevée, moins le rendement en Champignons est important.

Si l'on rapproche l'un de l'autre les poids de Champignons obtenus dans des liquides qui proviennent de la substitution du même radical à 1, 2 ou 3 H, par exemple les trois méthylamines, on verra que toujours c'est l'amine qui n'a qu'un H substitué qui donne le plus fort rendement ; vient ensuite le liquide contenant l'amine à deux radicaux substitués, et, en dernier lieu, celui contenant l'amine à trois radicaux substitués. On a de plus remarqué que la substitution d'un quatrième radical, dont l'effet était la transfor-

mation du corps primitif en sel d'ammonium composé, rendait ce corps impropre à la nutrition azotée des Champignons.

Enfin, si l'on rapproche les résultats obtenus avec des liquides renfermant des amines dont la formule brute soit la même, mais provenant de la substitution à l'hydrogène, l'une de un radical seulement, l'autre de plusieurs radicaux de grandeur moléculaire moins élevée, par exemple la propylamine et la triméthylamine, c'est le liquide renfermant l'amine à un seul radical substitué qui donnera le plus fort rendement.

On peut considérer ces divers résultats comme définissant le pouvoir nutritif des amines et des composés similaires vis-à-vis des Champignons.

Il est malheureusement à peu près impossible de les appliquer aux autres plantes, car leurs besoins d'azote sont beaucoup trop inférieurs à ceux des Champignons et, par suite, laissent trop de prise aux causes d'erreur.

CHAPITRE IV

RÔLE JOUÉ VIS-A-VIS DES VÉGÉTAUX PAR LES AMINES QUI, EMPLOYÉES SEULES, NE PEUVENT SERVIR A LEUR NUTRITION, ET PAR LES ALCALOÏDES.

Expériences préliminaires.

Les recherches exposées dans les chapitres précédents ont montré que certaines amines : naphtylamine, diphénylamine, pyridine, etc., les sels d'ammoniums composés et les alcaloïdes, placés comme aliment azoté dans une solution nutritive qui ne contient cet élément sous aucune autre forme, ne peuvent servir comme source d'azote assimilable par les végétaux.

Je me suis proposé, dans les expériences qui vont suivre, de chercher comment ces substances se comportaient

exactement vis-à-vis des plantes, et de préciser leur mode d'action : *sont-elles TOXIQUES*, ou *simplement INASSIMILABLES*, ou bien *peut-on les faire ABSORBER par la plante à l'aide de certains artifices* ?

L'emploi des Champignons était tout indiqué pour ces recherches : la rapidité de leur croissance, le poids initial de la semence qui peut être considéré comme nul, enfin leurs besoins considérables d'azote, permettent d'apporter dans l'étude de cette question une précision beaucoup plus grande que celle qu'on pourrait atteindre avec toute autre plante.

Pour savoir si les amines dont il s'agit ici et les alcaloïdes sont toxiques, il suffisait d'une expérience très simple :

Dans des liquides nutritifs composés suivant une formule donnée, celle de Raulin par exemple, on introduit une certaine quantité des sels d'amines ou d'alcaloïdes à étudier et on y sème quelques spores de Champignons; les solutions sont mises à l'étuve, et on suit la marche de la végétation.

Cet essai a été fait avec la série suivante de milieux :

- | | | |
|----|--|--|
| 1. | Liquide de Raulin type (terme de comparaison), | 150 ^{cc} . |
| 2. | — | type, 150 ^{cc} + chlorhydrate de morphine, 0 ^{gr} ,50. |
| 3. | — | — + chlorhydrate de cocaïne, 0 ^{gr} ,50. |
| 4. | — | — + chlorhydrate de quinine, 0 ^{gr} ,50. |
| 5. | — | — + chlorhydrate de diphénylamine, 0 ^{gr} ,50. |
| 6. | — | — + chlorhydrate de naphtylamine, 0 ^{gr} ,50. |
| 7. | — | — + chlorhydrate de pyridine, 0 ^{gr} ,50. |
| 8. | — | — + chlorhydrate de tétraméthylammonium, 0 ^{gr} ,50. |
| 9. | — | — + chlorhydrate de tétraéthylammonium, 0 ^{gr} ,50. |

Le 27 janvier 1897, ces différents liquides, ensemencés de quelques spores d'*Aspergillus niger*, ont été placés à l'étuve à 35°. L'expérience a été arrêtée le 10 février.

Le contenu des divers cristallisoirs a été jeté sur des filtres tarés; les Champignons restés sur les filtres ont été lavés à l'eau distillée, puis séchés et pesés.

Un accident arrivé pendant le lavage des Champignons

m'a empêché d'avoir, dans la première expérience, la quantité exacte d'*Aspergillus*, qui avait poussé dans le liquide à base de pyridine, où cependant s'était produit un beau développement de cette Mucédinée.

Voici les poids de Champignons obtenus dans les diverses cultures :

Expérience I.

LIQUIDES.	POIDS de Champignons (grammes).	GAIN sur le type (grammes).	PERTE sur le type (grammes).
Raulin type.....	1,375	»	»
Raulin + morphine.....	1,580	0,205	»
Raulin + cocaïne.....	2,170	0,795	»
Raulin + quinine.....	1,598	0,243	»
Raulin + diphénylamine.....	0	»	1,375
Raulin + naphtylamine.....	0	»	1,375

Expérience II.

LIQUIDES	POIDS de Champignons (grammes).	GAIN sur le type (grammes).	PERTE sur le type (grammes).
Raulin type.....	1,363	»	»
Raulin + tétraméthylammo- nium.....	1,822	0,459	»
Raulin + tétraéthylammo- nium.....	1,483	0,126	»
Raulin + pyridine.....	1,995	0,632	»

Ces expériences montrent que la naphtylamine et la diphénylamine sont réellement toxiques pour l'*Aspergillus*, puisqu'elles ont arrêté son développement dans un liquide de Raulin normal.

D'autre part, la pyridine et les alcaloïdes, ainsi que les sels d'ammoniums composés, lorsqu'ils étaient ajoutés à un liquide nutritif comme seule source d'azote, n'ont donné lieu à aucun développement de Champignons. Mais,

ajoutés supplémentairement à un liquide nutritif complet, ils n'ont pas arrêté ce développement. Ce résultat montre que ces substances ne sont pas toxiques pour l'*Aspergillus*. Si, dans les expériences primitives, alors qu'elles étaient la seule source d'azote du milieu nutritif, le Champignon ne s'est pas développé, c'est simplement parce qu'il n'a pas pu, par ses propres moyens, détruire la molécule des composés azotés et s'emparer de leur azote.

Si l'on considère en outre les poids d'*Aspergillus* obtenus dans les séries d'expériences précédentes et qu'on les rapproche des poids fournis par les liquides types, on voit que les milieux renfermant des sels d'ammoniums composés, de la pyridine et des alcaloïdes ont fourni un rendement plus élevé que le type.

Ceci permettrait de supposer que *si ces substances employées seules ne peuvent céder leur azote à la plante, elles pourraient bien être assimilées* EN PRÉSENCE D'AZOTE MINÉRAL. Ce dernier agirait alors par lui-même comme aliment directement assimilable, puis COMME MOYEN D'ENTRAÎNEMENT vis-à-vis de l'azote organique, inassimilable lorsqu'il était seul.

D'autres expériences plus précises vont permettre de vérifier cette hypothèse.

Expériences définitives.

Ces expériences ont été faites en deux séries distinctes, l'une portant sur les amines (naphtylamine, diphénylamine, pyridine), l'autre sur les alcaloïdes.

I. — AMINES.

Ces expériences ont porté sur la diphénylamine, la naphtylamine et la pyridine, qui s'étaient jusqu'ici montrées impropres à la nutrition azotée des Champignons.

Pour définir le rôle exact joué par ces substances vis-à-vis des Champignons, j'ai préparé du liquide de Raulin

auquel j'ai ajouté des quantités déterminées de ces amines, ainsi qu'il est indiqué dans le tableau ci-après :

1.	Liquide de Raulin type, 150°c.		
2.	— type, 150°c	+ chlorhydrate de diphénylamine,	0 ^{gr} ,20.
3.	— — —	+ — — —	0 ^{gr} ,10.
4.	— — —	+ chlorhydrate de naphtylamine,	0 ^{gr} ,20.
5.	— — —	+ — — —	0 ^{gr} ,10.
6.	— — —	+ chlorhydrate de pyridine,	0 ^{gr} ,20.

150 centimètres cubes de chacun de ces liquides ont été disposés dans des cristallisoirs fermant exactement, et le tout a été stérilisé à l'autoclave à 120°.

Chaque cristallisoir a ensuite reçu quelques spores d'*Aspergillus niger*. Cette opération a été effectuée le 24 avril 1897. Les milieux ainsi préparés ont été placés dans une étuve à 35° et abandonnés jusqu'au 6 mai.

Le contenu des cristallisoirs est alors jeté sur des filtres tarés; les Champignons restés sur les filtres sont lavés avec soin à l'eau distillée, les eaux de lavage réunies aux liquides de culture, et les Champignons séchés à l'étuve dans les filtres et pesés après dessiccation.

Voici les quantités de Champignons obtenues :

LIQUIDES	POIDS de Champignons (grammes).	GAIN sur liquide type (grammes).	PERTE sur liquide type (grammes).
1. Type.....	0,990	»	»
2. Diphénylamine, 0 ^{gr} ,20.....	0	»	0,990
3. — 0 ^{gr} ,10.....	0	»	0,990
4. Naphtylamine, 0 ^{gr} ,20.....	0	»	0,990
5. — 0 ^{gr} ,10.....	0,108	»	0,882
6. Pyridine, 0 ^{gr} ,20.....	1,132	0,142	»

Ces résultats montrent nettement le rôle *toxique* joué, vis-à-vis de l'*Aspergillus*, par la diphénylamine et la naphtylamine, même employées à faible dose (0,07 p. 100).

Quant à la pyridine, elle a donné un poids de Champignons supérieur à celui fourni par le liquide de Raulin type,

employé dans les mêmes conditions de température, de dilution et de durée.

Il y avait donc lieu de supposer qu'une partie ou même la totalité du chlorhydrate de pyridine avait été absorbée par le Champignon qui s'en serait servi pour augmenter sa masse.

Pour vérifier cette hypothèse, il suffisait de doser dans le liquide de culture et les eaux de lavage la quantité de chlorhydrate de pyridine restant en solution.

Le procédé de dosage le plus précis consistait à précipiter la pyridine à l'état d'iodo-mercurate par l'iodure double de mercure et de potassium et à y doser l'azote par la méthode de Dumas. Du poids de l'azote, on déduit facilement la quantité de chlorhydrate de pyridine restant dans la liqueur.

Malheureusement, il faut, pour cet essai, un poids d'iodo-mercurate relativement considérable, et en tout cas notablement supérieur à celui obtenu par la précipitation du liquide de culture. J'ai eu alors recours à l'artifice suivant :

0^{gr},20 de chlorhydrate de pyridine (poids égal à celui mis en expérience) ont été dissous dans 150 centimètres cubes d'eau distillée (volume égal à celui mis en expérience), et précipités par l'iodure double de mercure et de potassium. Le précipité, recueilli sur un filtre taré, a été lavé, séché et pesé. Par comparaison du poids d'iodo-mercurate obtenu dans ces conditions avec celui obtenu par précipitation du liquide de culture, on peut déduire, avec une approximation suffisante, la quantité de chlorhydrate de pyridine restant dans la liqueur, et, par suite, celle absorbée par le Champignon.

Voici les résultats de ces expériences :

Poids d'iodo-mercurate obtenu avec 0 ^{gr} ,20 de chlorhydrate de pyridine	0 ^{gr} ,932
Poids d'iodo-mercurate obtenu avec le liquide de culture.	0 ^{gr} ,385

Ceci correspond à $\frac{0,20 \times 0,385}{0,932} = 0^{\text{gr}},082$ de chlorhydrate de pyridine restant dans la liqueur.

Il y a donc eu

$$0,20 - 0,082 = 0^{\text{re}},118$$

de sel de pyridine assimilé.

Donc, si la pyridine n'est pas assimilable directement, elle peut le devenir si, dans le liquide de culture, on ajoute de l'azotate d'ammoniaque. Le sel ammoniacal, ainsi introduit, agit pour son propre compte comme source d'azote directement assimilable, et, de plus, il opère une sorte d'entraînement du chlorhydrate de pyridine, qui peut alors être assimilé par le Champignon, alors que seul il ne pouvait pas l'être.

II. — ALCALOÏDES.

Les résultats obtenus dans les recherches préliminaires ont montré que, tandis que les alcaloïdes *seuls* ne pouvaient servir à la nutrition azotée des Champignons, ces organismes se développaient avec vigueur si on les mettait en présence d'un milieu nutritif contenant, outre les alcaloïdes, de l'azotate d'ammoniaque.

A l'examen final, on a constaté que le poids de Champignon obtenu dans de tels milieux était supérieur à celui recueilli dans le liquide type de Raulin.

En rapprochant ces résultats de ceux observés avec le chlorhydrate de pyridine, il était permis de se demander s'il n'y avait pas là des faits analogues à ceux que l'on a constatés avec ce sel.

J'ai donc fait, avec les alcaloïdes, plusieurs séries d'expériences du même ordre que celles faites avec les amines inassimilables directement, mais en prenant cette précaution de calculer les formules des milieux de telle sorte que l'azote apporté en supplément, sous forme de sels d'alcaloïdes, fût constant pour tous les milieux.

Un liquide de Raulin type servira de comparaison. De plus, comme l'apport dans tous les liquides de culture de

composés sous forme de chlorhydrates y détermine un excédent de chlore par rapport au type, il a été surajouté au liquide de Raulin la quantité de chlorure de potassium correspondant à cet excès de chlore.

L'excès de potassium, introduit sous cette forme dans le liquide type, a été compensé dans les autres liquides par la quantité de carbonate de potasse correspondant à ce poids. Il se forme ainsi du tartrate de potasse, mais toutes les expériences antérieures ont montré que ce sel s'assimilait aussi bien que l'acide tartrique.

Voici les formules de ces divers liquides :

A. *Liquide type*. — Liquide de Raulin 150 c.c. ; chlorure de potassium 0^{gr},42.

B. *Liquide à base de morphine*. — Liquide de Raulin 150 c.c. ; carbonate de potasse 0^{gr},389 ; chlorhydrate de morphine 2^{gr},112.

C. *Liquide à base de cocaïne*. — Liquide de Raulin 150 c.c. ; carbonate de potasse 0^{gr},389 ; chlorhydrate de cocaïne 1^{gr},910.

D. *Liquide à base de quinine*. — Liquide de Raulin 150 c.c. ; carbonate de potasse 0^{gr},389 ; chlorhydrate de quinine 1^{gr},050.

1^{re} série d'expériences. — Le 15 février 1897, 150 c.c. de chacun des liquides précédents ont été introduits dans des cristallisoirs fermés exactement par un disque de verre rodé et stérilisés à l'autoclave à 120°.

Ils ont été ensuiteensemencés avec quelques spores d'une culture pure d'*Aspergillus niger*, prélevée au moyen d'une aiguille de platine flambée. Les cultures ont été disposées à l'étuve à 35° et abandonnées à elles-mêmes jusqu'au 5 mars.

Les Champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, lavés et séchés, puis pesés. Voici les poids obtenus :

LIQUIDES	POIDS de Champignons (grammes).	GAIN sur le liquide type (grammes).
Liquide A (type).....	1,145	»
— B (morphine).....	2,173	1,028
— C (cocaine).....	1,465	0,320
— D (quinine).....	2,935	1,790

Ces résultats sont du même ordre que ceux des expériences préliminaires. Ils comportent, dans tous les milieux ainsi composés, une augmentation du poids du Champignon par rapport à celui obtenu dans le liquide type.

2^e série d'expériences. — Le 9 mars 1897, une nouvelle série de cultures d'*Aspergillus niger* a été faite dans des liquides de même composition. Les liquides avaient été au préalable stérilisés à l'autoclave à 120°. Les cultures ont été abandonnées à l'étuve à 35° jusqu'au 25 mars. Les Champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, puis lavés, séchés et pesés.

Les eaux de lavage ont été réunies aux liquides de culture, afin d'y chercher, par l'analyse, s'il y avait eu assimilation des sels d'alcaloïdes.

Voici les poids de Champignons obtenus :

LIQUIDES	POIDS de Champignons (grammes).	GAIN sur le liquide type (grammes).
Liquide A (type).....	0,890	»
— B (morphine).....	2,144	1,254
— C (cocaine).....	1,236	0,346
— D (quinine).....	2,340	1,450

Ces résultats sont absolument du même ordre que ceux de l'expérience précédente.

Ceci fait, les liquides de culture ont été analysés de la même manière que le liquide à base de pyridine, pour y rechercher la quantité d'alcaloïde restant dans la solution.

Traités par l'iodure double de mercure et de potassium, tous les milieux de culture ont donné un précipité. La précipitation d'iodo-mercurate de morphine s'est effectuée sous forme gélatineuse. Le précipité retenait, par suite, une certaine quantité de sel mercurique qui pourrait être difficilement enlevé par les lavages et risquerait de fausser les résultats.

Je me suis donc borné à faire les recherches sur les milieux de culture à base de cocaïne et de quinine. L'essai a été fait par comparaison, comme dans le cas de la pyridine.

0^{gr},20 de chlorhydrate de cocaïne et de chlorhydrate de quinine ont été dissous respectivement dans une quantité d'eau distillée telle que la dilution de cette solution soit sensiblement celle du liquide de culture. Ils ont été précipités par l'iodure double de mercure et de potassium; les précipités, recueillis sur des filtres tarés, ont été lavés, séchés et pesés, et les poids obtenus comparés à ceux obtenus avec les liquides de culture.

I. *Cocaïne* :

Poids du précipité d'iodo-mercurate obtenu avec 0 ^{gr} ,20 de chlorhydrate de cocaïne.....	0 ^{gr} ,398
Poids du précipité d'iodo-mercurate obtenu avec le liquide de culture de l' <i>Aspergillus</i>	4 ^{gr} ,852

Ce poids correspond à $\frac{0,20 \times 1,852}{0,598} = 0^{\text{gr}},619$ de chlorhydrate de cocaïne restant dans la liqueur.

Il en a donc été *absorbé par le Champignon* :

$$1,900 - 0,619 = 1^{\text{gr}},291.$$

II. *Quinine* :

Poids du précipité d'iodo-mercurate obtenu avec 0 ^{gr} ,20 de chlorhydrate de quinine.....	0 ^{gr} ,541
Poids du précipité d'iodo-mercurate obtenu avec le liquide de culture.....	0 ^{gr} ,901

Ce poids correspond à $\frac{0,20 \times 0,900}{0,541} = 0^{\text{gr}},332$ de chlorhydrate de quinine restant dans la liqueur.

Il en a donc été *absorbé par le Champignon* :

$$1,050 - 0,332 = 0^{\text{gr}},718.$$

3^e *série d'expériences*. — Cette série d'expériences a porté sur les trois liquides : A (type), C (à base de cocaïne), D (à base de quinine).

Ces liquides, contenus dans des cristallisoirs fermés exactement par un disque de verre rodé, ont été stérilisés à l'autoclave à 120° et ensemencés, le 24 avril 1897, avec quelques spores d'*Aspergillus niger*.

Les cultures ont été mises à l'étuve à 35° et l'expérience a pris fin le 6 mai.

Les Champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, lavés à l'eau distillée, séchés et pesés. Les eaux de lavage ont été réunies aux liquides de culture afin de les analyser.

Voici les poids de Champignons obtenus :

LIQUIDES	POIDS de Champignons. (Grammes.)	GAIN sur le liquide type. (Grammes.)
Liquide A (type).....	1,145	»
— C (cocaïne).....	1,486	0,341
— D (quinine).....	2,027	0,882

Ces résultats sont encore de même ordre que les précédents.

Les liquides de culture, réunis aux eaux de lavage, ont été précipités par l'iodure double de mercure et de potassium, et les poids de précipités comparés à ceux produits par des poids donnés de chlorhydrates de cocaïne et de quinine, placés dans des conditions de dilution aussi semblables que possible à celles des liquides de culture.

I. *Cocaïne*.

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0 ^{gr} ,20 de chlorhydrate de cocaïne.....	35 ^{gr} ,598
Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec le li- quide de culture.....	28 ^{gr} ,840

Ce poids correspond à $\frac{0,20 \times 2,840}{0,598} = 0^{\text{gr}},949$ de chlorhydrate de cocaïne restant dans la liqueur.

Il en a donc été *absorbé par le Champignon* :

$$4,910 - 0,949 = 0^{\text{gr}},961$$

II. Quinine.

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0 ^{gr} ,20 de chlorhydrate de quinine.....	0 ^{gr} ,541
Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec le li- quide de culture.....	4 ^{gr} ,010

Ce poids correspond à $\frac{0,20 \times 4,010}{0,541} = 0^{\text{gr}},373$ de chlorhydrate de quinine restant dans la liqueur.

Il en a donc été *absorbé par le Champignon* :

$$4,050 - 0,373 = 0^{\text{gr}},677.$$

Résultats. — Les expériences qui précèdent fournissent les résultats suivants :

La toxicité, même à très faible dose (0,07 p. 100) des sels de diphénylamine et de naphtylamine est entièrement démontrée.

La pyridine, les sels d'ammoniums composés et les alcaloïdes, que l'on a vus précédemment incapables de suffire seuls à la nutrition azotée des végétaux, ont pu être employés avec succès en présence d'azote assimilable, et cela dans des conditions telles qu'aucun agent extérieur ne soit intervenu.

Des dosages, effectués sur les liquides de culture, ont montré que *l'assimilation de ces substances*, réputées jusqu'ici inassimilables, *était réelle*.

C'est ainsi que, dans un laps de temps de seize jours, j'ai pu faire absorber à de l'*Aspergillus niger* 1^{gr},291 de chlorhydrate de cocaïne et 0^{gr},718 de chlorhydrate de quinine; le résultat de cette absorption a été une augmentation de poids du Champignon, par rapport à celui fourni par 150 cc. de liquide de Raulin servant de type, de 0^{gr},346 dans le premier cas, et de 1^{gr},450 dans le second; dans les mêmes conditions, le poids fourni par le liquide type avait été de 0^{gr},890.

Ces faits permettent d'envisager d'une façon nouvelle l'assimilation de l'azote organique, et aussi le rôle des alcaloïdes dans les végétaux.

De plus, la comparaison des poids de Champignons, obtenus avec les divers alcaloïdes employés, montre que la grandeur moléculaire de l'alcaloïde joue le même rôle qu'elle a joué dans le cas de substances directement assimilables. Plus cette grandeur moléculaire est élevée, moins on obtient de Champignon.

CONCLUSIONS.

Les expériences rapportées dans les chapitres précédents mettent en lumière les faits suivants :

On admettait jusqu'ici que certains organismes, bactéries ou algues, pouvaient, soit seuls, soit vivant en symbiose entre eux, ou avec certaines plantes telles que les Légumineuses, fixer l'azote atmosphérique.

Les autres plantes devaient puiser leur azote dans le sol, mais ne pouvaient l'assimiler que s'il était sous forme d'azote nitrique ou ammoniacal (Müntz).

Les résultats expérimentaux signalés plus haut montrent que, *placés dans des conditions d'asepsie aussi rigoureuses que possible*, et de telle sorte que les agents extérieurs ne pussent exercer aucune action, soit fermentescible, soit fixatrice d'azote libre, *les plantes phanérogames peuvent emprunter l'azote qui leur est nécessaire à des composés organiques appartenant à la classe des AMINES, employés sous forme de sels. L'assimilation de ces substances peut avoir lieu SANS QUE LEUR AZOTE AIT SUBI AU PRÉALABLE UNE TRANSFORMATION en azote nitrique ou ammoniacal.*

Cette assimilation est, en outre, subordonnée à cette condition que *les amines proviennent de la substitution à l'hydrogène de radicaux dont la grandeur moléculaire ne soit pas trop élevée* : c'est ainsi que les méthylamines, par exemple, ont été d'excellentes sources d'azote assimilable, tandis que la benzylamine et la pyridine se sont montrées insuffisantes.

Les amines phénoliques (naphtylamine, diphénylamine, aniline) ont agi comme des toxiques puissants.

LES SELS D'AMMONIUMS COMPOSÉS et d'ALCALOÏDES, employés seuls comme source d'azote, n'ont pu fournir à la plante l'azote qui lui est nécessaire.

On a pu également constater que, *placées dans un milieu nutritif* contenant de l'azote sous forme d'une combinaison aminée ou alcaloïdique *inassimilable*, les plantes, après un temps de végétation plus ou moins long, *ont PERDU une quantité notable de LEUR AZOTE INITIAL*.

Des expériences entreprises en vue de savoir sous quelle forme disparaît cet azote, ont montré que ce corps ne se dégageait ni sous forme de composés nitriques, ni sous forme de composés ammoniacaux. Il n'a donc pu le faire qu'à l'état gazeux.

D'autres expériences ont été effectuées comparativement dans des sols contenant de l'azote sous une forme inassimilable, et dans du sable calciné arrosé uniquement avec de l'eau distillée. Elles ont montré que *les pertes d'azote étaient dues non à une action spéciale du milieu, mais à des phénomènes de désassimilation, comparables jusqu'à un certain point à une auto-fermentation*.

La cause de ce phénomène doit être cherchée dans une végétation prolongée de la plante en état de dénutrition azotée, et la perte d'azote semble être un des prodromes de la mort du végétal.

Quelques expériences, effectuées accidentellement au cours de ce travail, ont du reste permis de contrôler les conclusions de Sachsse, Delmer, Leclerc, Loskowsky, et Schlaesing fils ; *pendant la germination les graines ne perdent pas d'azote*.

Les ALGUES, placées dans des conditions de culture aussi aseptiques que possible, ont donné les mêmes résultats que les Phanérogames. Elles ont assimilé, dans d'excellentes conditions, l'azote provenant d'amines dans lesquelles la grandeur moléculaire du radical substitué à l'hydrogène n'est pas trop élevée.

Moins difficiles que les Phanérogames, elles ont pu végéter

dans la benzylamine, quoique plus difficilement que dans les autres milieux; enfin, les Oscillaires, bien connues pour leur rusticité, ont pu s'accommoder de produits encore plus complexes.

Dans tous les cas, la transformation préalable de l'azote organique en azote nitrique ou ammoniacal n'a pas eu lieu et peut, par suite, être considérée comme inutile.

Les amines phénoliques se sont montrées douées d'une grande toxicité vis-à-vis des Algues, comme cela avait déjà eu lieu avec les Phanérogames.

Les alcaloïdes, employés seuls comme source d'azote, sont impropres à la nutrition des Algues.

Les expériences relatives à la nutrition des CHAMPIGNONS à l'aide des amines, sels d'ammoniums composés et alcaloïdes, ont fourni des résultats plus précis encore que ceux obtenus avec les Phanérogames et les Algues. Les milieux nutritifs ayant été préparés de façon à avoir une composition élémentaire rigoureusement égale, quelle que soit la source d'azote employée, il a été possible de mesurer en quelque sorte le degré d'assimilabilité des diverses amines employées.

De même que les Phanérogames, les Champignons ont assimilé directement l'azote provenant des amines les moins élevées en grandeur moléculaire avec autant de facilité que s'il s'était agi d'azote nitrique ou ammoniacal.

Les amines phénoliques (naphtylamine, diphténylamine) n'ont donné lieu à aucun développement, de même que les sels d'ammoniums composés et les alcaloïdes.

On a pu également constater que *le poids de Champignons obtenu finalement était d'autant plus élevé que la grandeur moléculaire du radical substitué à l'hydrogène l'était moins.*

De plusieurs amines, provenant de la substitution du même radical à 1, 2 ou 3 H (par exemple les trois méthylamines), employées en quantités telles que le poids d'azote introduit dans les liquides nutritifs soit égal pour toutes ces amines, les autres éléments restant également constants, *c'est l'amine provenant de la substitution de UN SEUL RADICAL qui donne LE PLUS FORT RENDEMENT.* Celle à deux radicaux

substitués vient ensuite, et celle à trois radicaux donne la quantité de Champignons la plus faible. (On a vu que la substitution d'un quatrième radical, substitution qui transforme le corps en ammonium composé, rendait ce corps impropre à la nutrition azotée des plantes).

Enfin, *de deux amines possédant la même formule brute*, mais provenant de la substitution à l'hydrogène, l'une d'un seul radical, l'autre de plusieurs radicaux de grandeur moléculaire moindre (exemple : propylamine et triméthylamine), *c'est l'amine provenant de la substitution de UN RADICAL SEULEMENT qui donne LE PLUS FORT RENDEMENT.*

Des expériences ultérieures ont montré que la naphtylamine et la diphénylamine sont puissamment toxiques, même à dose très faible (0,07 p. 100).

D'autre part, la *pyridine*, les *sels d'ammoniums composés* et les *ALCALOÏDES*, employés seuls comme source d'azote, n'avaient pu servir à la nutrition des Champignons. *Il n'en est plus de même si on les ajoute à un milieu nutritif contenant de l'azote directement assimilable.*

Celui-ci agit alors comme AGENT D'ENTRAÎNEMENT, et on peut arriver à FAIRE ABSORBER AUX CHAMPIGNONS DES DOSES CONSIDÉRABLES DE CES PRODUITS (jusqu'à 1^{er},291 de chlorhydrate de cocaïne et 0^{er},718 de chlorhydrate de quinine en seize jours et par 150 cc. de liquide nutritif de Raulin). Cette absorption d'alcaloïdes s'est traduite par une notable augmentation du poids de Champignons recueillis (quelquefois plus du double).

En outre, des recherches du même ordre, faites avec des liquides nutritifs de composition élémentaire égale, quelle que soit la source d'azote employée, ont montré que *les mêmes règles qui gouvernent l'assimilation des amines gouvernent aussi celle des alcaloïdes* : plus la grandeur moléculaire de l'alcaloïde est élevée, moins il est assimilable.

Dans un autre ordre d'idées, les résultats obtenus avec les amines constituent un nouvel appoint à l'étude des engrais et en particulier des fumiers. On sait que les premiers phé-

nomènes de fermentation des fumiers s'accompagnent de productions importantes d'amines. Il en est de même des marcs de betteraves et de fruits, fréquemment employés comme engrais, et aussi des masses énormes de mollusques ou de poissons de mer répandus, en guise de fumure, dans les champs des régions côtières.

On supposait que l'azote organique, résultant de leur putréfaction, avant d'être assimilé par les plantes, devait être transformé, d'abord en sels ammoniacaux, puis en nitrates par les ferments du sol.

Les expériences faites sur les trois classes de plantes : Phanérogames, Algues, Champignons, montrent qu'une telle succession de transformations est parfaitement inutile, puisque les plantes sont capables d'assimiler les amines inférieures tout aussi bien que les nitrates. Elles expliquent, par suite, la rapidité d'action des fumiers sur la végétation.

De leur côté, les résultats d'assimilation obtenus avec les alcaloïdes, permettent de revenir sur la question du rôle des *alcaloïdes* dans les végétaux.

Rigoureusement inassimilables SEULS, les *alcaloïdes* ont pu être LARGEMENT ABSORBÉS en présence d'azote directement assimilable. C'est probablement dans cette voie qu'il faudra chercher la cause des migrations et de la disparition des alcaloïdes dans le corps de la plante à certaines époques de la végétation.

Il est malheureusement regrettable que les besoins d'azote des végétaux phanérogames, très faibles par rapport à ceux des Champignons, ne permettent qu'avec les plus grandes difficultés de faire sur eux de semblables recherches avec toutes les garanties de précision nécessaires.

Mais, comme on a retrouvé dans toute la série végétale la même manière de se comporter des plantes vis-à-vis des amines et des alcaloïdes, un rapprochement des Phanérogames et des Champignons, sous le rapport de l'assimilation des alcaloïdes peut être envisagé comme possible, et les résultats expérimentaux, rapportés précédemment, semblent autoriser à admettre cette hypothèse comme vraisemblable.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages.
Introduction	1
Nutrition des Phanérogames.	
Expériences préliminaires.....	8
Expériences définitives.....	18
Analyse des graines.....	19
Appareil et modes de culture.....	20
Expériences de culture.....	22
I. — AMINES	
A. — Amines alcooliques.....	24
B. — Amines phénoliques.....	42
C. — Amines à fonctions mixtes.....	46
D. — Bases pyridiques.....	50
II. — SELS D'AMMONIUM COMPOSÉS.	51
III. — ALCALOÏDES.	54
Remarques générales.....	65
SOUS QUELLE FORME L'AZOTE PERDU DANS CERTAINES EXPÉRIENCES S'EST-IL DÉGAGÉ ?	67
CAUSE DES PERTES D'AZOTE.	69
Nutrition des Algues.	73
Nutrition des Champignons.	79
Rôle joué vis-à-vis des végétaux par les amines qui, employées seules, ne peuvent servir à leur nutrition et par les alcaloïdes.	87
CONCLUSIONS.	99

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

PHYSIOLOGIE — Alimentation.

GÉOLOGIE. — Histoire géologique du Pays de Bray.

Vu et approuvé : Paris, le 30 Novembre 1898.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

G. DARBOUX

Vu et permis d'imprimer,

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

GRÉARD

